





Université de Montréal

**ÉVALUATION DES EFFETS DE L'ADMINISTRATION DE FER  
INTRAMUSCULAIRE SUR L'ANÉMIE CHEZ  
LES OISEAUX DE PROIE**

par

CATHERINE DUBÉ

Département de sciences cliniques  
Faculté de médecine vétérinaire

Mémoire présenté à la Faculté de médecine vétérinaire  
en vue de l'obtention du grade de  
maître ès sciences (M.Sc.)  
en sciences vétérinaires  
option sciences cliniques

Avril 2011

© Catherine Dubé, 2011



Université de Montréal  
Faculté de médecine vétérinaire

Ce mémoire intitulé

**ÉVALUATION DES EFFETS DE L'ADMINISTRATION DE FER  
INTRAMUSCULAIRE SUR L'ANÉMIE CHEZ  
LES OISEAUX DE PROIE**

présenté par  
CATHERINE DUBÉ

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes

Martine Boulianne, présidente-rapporteuse  
Guy Fitzgerald, directeur de recherche  
Christian Bédard, codirecteur  
Marie-Ève Nadeau, membre du jury



## Résumé

---

L'administration de fer dextran à 10 mg/kg intramusculaire (IM) est un traitement empirique couramment recommandé en médecine aviaire lors d'hémorragie ou d'anémie. L'objectif principal de cette étude était d'évaluer les effets de ce traitement sur l'anémie chez les oiseaux de proie. Deux types d'individus ont été utilisés : des crécerelles d'Amérique (*Falco sparverius*) où une anémie par perte de sang externe aiguë a été créée (deux phlébotomies de 20-40 % du volume sanguin total à un intervalle de 6 h) et des oiseaux de proie sauvages de différentes espèces souffrant d'anémies diverses. L'ensemble des oiseaux a été subdivisé aléatoirement en groupe traitement (fer dextran 10 mg/kg IM) et contrôle (NaCl 0,9% IM). Un suivi dans le temps a été réalisé afin d'étudier leur récupération de l'anémie, la présence d'effets secondaires au traitement et l'impact d'une administration de fer sur ces réserves. Aucune différence significative n'a été observée entre les deux groupes en ce qui concerne les signes cliniques, l'hématocrite, le pourcentage des polychromatophiles/réticulocytes, la densité cellulaire et le fer de la moelle osseuse, la créatine kinase et le fer plasmatique. La majorité des crécerelles ont présenté une myosite au site d'injection du fer. Nos résultats suggèrent qu'une administration de 10 mg/kg de fer dextran IM n'a pas d'effet sur l'érythropoïèse des rapaces souffrant d'anémie par perte de sang externe aiguë, qu'elle provoque une légère inflammation au site d'injection et qu'elle n'influence pas les réserves de fer. Le comptage des réticulocytes en anneau et des polychromatophiles semble être deux méthodes équivalentes.

**Mots clés :** anémie, fer dextran, oiseaux de proie, crécerelle d'Amérique, hématocrite, réticulocytes, polychromatophiles, moelle osseuse, fer plasmatique





## Abstract

---

A 10 mg/kg intramuscular (IM) administration of iron dextran is a common empirical treatment recommended in avian medicine for hemorrhage and anemia. The purpose of this study was to evaluate the effects of this treatment on anemia in birds of prey. Two kinds of specimen were used: the American kestrel (*Falco sparverius*) where an acute external blood loss anemia was created (with two phlebotomies of 20-40 % of the total blood volume at 6 hours interval) and other various species of wild birds of prey suffering from different types of anemia. All subjects were randomized into a treatment (iron dextran 10 mg/kg IM) or a control (NaCl 0,9 % IM) group. Monitoring was carried out to evaluate the evolution of the anemia, presence of side effects and impact of an iron administration on their iron reserve. No significant differences were observed between the two treatment groups for clinical signs, packed cell volume, the percentage of reticulocytes/polychromatophilic erythrocytes, bone marrow cellularity and iron, plasmatic iron and creatine kinase. Most kestrels had a myositis at the iron injection site. Our results suggest that an IM injection of 10 mg/kg iron dextran has no effect on raptor erythropoiesis after an acute external blood loss anemia, that it has no effect on iron reserve, and that it can cause mild inflammation at the injection site. The polychromatophilic erythrocytes and the reticulocytes ring form count were two equivalent methods.

**Keys words:** anemia, iron dextran, birds of prey, American kestrel, packed cell volume (PCV), reticulocytes, polychromatophilic erythrocytes, bone marrow, plasmatic iron



# Table des matières

---

<b>Résumé</b> .....	v
<b>Abstract</b> .....	vii
<b>Liste des tableaux</b> .....	xiii
<b>Liste des figures</b> .....	xiiiv
<b>Liste des sigles et des abréviations</b> .....	xix
<b>Dédicace</b> .....	xxi
<b>Remerciements</b> .....	xxiii
<b>Avant-propos</b> .....	xxv
<b>Introduction</b> .....	1
<b>Chapitre 1 – Revue de la littérature</b> .....	3
1. L'hématologie aviaire .....	3
1.1. Les prélèvements sanguins .....	3
1.2. Les érythrocytes .....	7
1.3. L'érythropoïèse .....	13
2. L'anémie chez les oiseaux de proie .....	16
2.1. Les types d'anémie et leur prévalence .....	16
2.2. Le diagnostic de l'anémie .....	19
2.2.1. Le diagnostic clinique.....	19
2.2.2. Le diagnostic hématologique .....	19
2.2.3. L'évaluation de la moelle osseuse .....	22
2.3. Les traitements de l'anémie.....	23
2.3.1. La fluidothérapie .....	23
2.3.2. La transfusion sanguine .....	24
2.3.3. L'Oxyglobin® .....	25
2.3.4. Le fer dextran.....	26
2.3.5. Les vitamines du complexe B .....	29

2.3.6. L'érythropoïétine (EPO) .....	30
3. Le fer et l'anémie .....	30
3.1. Le métabolisme du fer chez les oiseaux.....	30
3.2. L'évaluation des réserves de fer.....	34
3.2.1. Les paramètres sanguins.....	34
3.2.2. L'examen microscopique .....	35
3.3. L'anémie par déficience en fer .....	36
3.4. L'anémie de condition chronique.....	37
<b>Chapitre 2 – Méthodologie</b> .....	39
1. Individus à l'étude .....	39
1.1. Crécerelles d'Amérique issues de la captivité .....	39
1.2. Oiseaux de proie sauvages .....	39
2. Manipulations .....	40
2.1. Administration du traitement.....	41
2.1.1. Crécerelles d'Amérique issues de la captivité.....	41
2.1.2. Oiseaux de proie sauvages .....	42
2.2. Suivi des oiseaux anémiques .....	43
2.2.1. Crécerelles d'Amérique issues de la captivité.....	43
2.2.2. Oiseaux de proie sauvages .....	45
2.3. Analyses post-mortem.....	47
2.3.1. Crécerelles d'Amérique issues de la captivité.....	47
2.3.2. Oiseaux de proie sauvages .....	48
3. Analyses statistiques .....	49
4. Résumé des manipulations.....	50
<b>Chapitre 3 – Résultats</b> .....	53
1. Crécerelles d'Amérique issues de la captivité.....	53
1.1. Récupération des oiseaux anémiques.....	53
1.1.1. Évolution de l'hématocrite.....	53
1.1.2. Évolution des cellules érythroïdes immatures.....	54
1.1.2.1. Polychromatophiles .....	54

1.1.2.2. Réticulocytes .....	55
1.1.2.3. Rubricytes et rubriblastes .....	56
1.1.2.4. Autres caractéristiques des globules rouges ....	57
1.1.3. Densité cellulaire de la moelle osseuse .....	57
1.1.4. Évolution des signes cliniques .....	59
1.2. Réticulocytes versus polychromatophiles .....	59
1.3. Effets secondaires .....	61
1.3.1. Créatine kinase plasmatique .....	61
1.3.2. Histologie des muscles pectoraux.....	62
1.4. Réserves de fer .....	64
1.4.1. Fer plasmatique .....	64
1.4.2. Fer de la moelle osseuse .....	65
1.5. Oiseaux retirés du projet et mortalités .....	67
1.6. Nécropsies.....	68
2. Oiseaux de proie sauvages.....	68
2.1. Prévalence de l'anémie .....	68
2.1.1. Lors du projet.....	68
2.1.2. Rétrospective à la Clinique des oiseaux de proie (COP) 70	
2.2. Portrait des individus inclus dans le projet.....	70
2.3. Récupération des oiseaux anémiques.....	76
<b>Chapitre 4 – Discussion .....</b>	<b>77</b>
1. Crécerelles d'Amérique issues de la captivité .....	77
1.1. Récupération des oiseaux anémiques.....	77
1.2. Réticulocytes et polychromatophiles .....	82
1.3. Effets secondaires .....	84
1.4. Réserves de fer .....	86
2. Oiseaux de proie sauvages.....	90
2.1. Prévalence de l'anémie .....	90
2.2. Récupération des oiseaux anémiques et fer plasmatique .....	91
2.3. Identification du type d'anémie en cause.....	92

<b>Conclusion</b> .....	95
<b>Bibliographie</b> .....	97
<b>Annexe I</b> – Grille d'évaluation des points limites par score .....	xxvii
<b>Annexe II</b> – Protocoles de coloration .....	xxix
<b>Annexe III</b> – Protocole de traitement et d'analyse d'image par le logiciel <i>Image J</i> .....	xxxi
<b>Annexe IV</b> – Projet pilote sur la création d'une anémie par déficience en fer via une perte de sang externe chronique chez la crécerelle d'Amérique ( <i>Falco sparverius</i> ) .....	xxxv

## Liste des tableaux

---

<b>Tableau I :</b> Classification des types d'anémie fréquemment rencontrés chez les espèces aviaires .....	17
<b>Tableau II :</b> Manipulations faites chez les crécerelles d'Amérique issues de la captivité.....	50
<b>Tableau III :</b> Manipulations faites chez les oiseaux de proie sauvages.....	51
<b>Tableau IV :</b> Pourcentage moyen du nombre de rubricytes et de rubriblastes des individus du groupe traitement (fer, n=18) et contrôle (saline, n=17) en fonction du temps .....	56
<b>Tableau V :</b> Variation des valeurs de fer plasmatique ( $\mu\text{mol/L}$ ) des individus du groupe traitement (fer, n=8) et contrôle (saline, n=8) en fonction du temps (Min=minimum, Max=maximum) .....	65
<b>Tableau VI :</b> Variation des réserves de fer de la moelle osseuse (%) chez les individus du groupe traitement (fer, n=8) et contrôle (saline, n=8) à t14j ainsi que chez des individus non anémiques (normaux, n=4) .....	67
<b>Tableau VII :</b> Nombre d'oiseaux de proie et d'urubus à tête rouge reçus à la COP et inclus dans le projet entre le 1 <sup>er</sup> janvier 2009 et le 20 août 2010.....	69
<b>Tableau VIII :</b> Nombre d'oiseaux de proie et d'urubus à tête rouge avec évaluation de l'Ht entre le 1 <sup>er</sup> décembre 1986 et le 18 janvier 2011 .....	70
<b>Tableau IX :</b> Portrait global des 12 oiseaux sauvages inclus dans le projet entre le 1 <sup>er</sup> janvier 2009 et le 20 août 2010 .....	71
<b>Tableau X :</b> Évolution de l'Ht (L/L) et des ST (g/L) suite à une transfusion sanguine homologue chez un urubu à tête rouge (le temps 0 correspond au moment de la transfusion).....	75
<b>Tableau XI :</b> Exemple de résultats fournis par <i>Image J</i> suite à la demande de calcul de la fraction de l'aire occupée par la sélection.....	xxxiii
<b>Tableau XII :</b> Valeurs d'Ht (L/L) des trois crécerelles d'Amérique du projet pilote 1 en fonction du nombre de phlébotomies.....	xxxvii
<b>Tableau XIII :</b> Valeurs d'Ht (L/L) des quatre crécerelles d'Amérique du projet pilote 2 en fonction du nombre de phlébotomies.....	xxxviii





## Liste des figures

---

<b>Figure 1</b> : Photographie microscopique 1000X (objectif 100X) d'un frottis sanguin (coloration <i>Dip Quick</i> ) illustrant la présence d'érythrocytes aviaires matures chez une crécerelle d'Amérique .....	8
<b>Figure 2</b> : Photographie microscopique 1000X (objectif 100X) d'un frottis sanguin (coloration <i>Dip Quick</i> ) illustrant la présence d'un érythrocyte (A), d'un polychromatophile (B) et d'un rubricyte (C) chez une crécerelle d'Amérique .....	11
<b>Figure 3</b> : Photographie microscopique 1000X (objectif 100X) d'un frottis sanguin (coloration NBM) illustrant la présence de réticulocytes en anneau (R) chez une crécerelle d'Amérique .....	12
<b>Figure 4</b> : Photographie microscopique 1000X (objectif 100X) d'un frottis sanguin (coloration <i>Dip Quick</i> ) illustrant la présence d'un rubriblaste ou d'un prorubricyte chez une crécerelle d'Amérique .....	15
<b>Figure 5</b> : Graphique représentant la moyenne des valeurs d'hématocrite (L/L) des individus du groupe traitement (fer, n=18) et contrôle (saline, n=17) en fonction du temps .....	54
<b>Figure 6</b> : Graphique représentant la moyenne du pourcentage de polychromatophiles des individus du groupe traitement (fer, n=18) et contrôle (saline, n=17) en fonction du temps .....	55
<b>Figure 7</b> : Graphique représentant la moyenne du pourcentage de réticulocytes des individus du groupe traitement (fer, n=18) et contrôle (saline, n=17) en fonction du temps .....	56
<b>Figure 8</b> : Photographie microscopique 600X (objectif 60X) d'un frottis sanguin (coloration <i>Dip Quick</i> ) illustrant la présence d'un polychromatophile binucléé chez une crécerelle d'Amérique .....	57
<b>Figure 9</b> : Photographie microscopique 400X (objectif 40X) d'une préparation histologique (coloration HPS) de moelle osseuse (t14j) chez une crécerelle d'Amérique.....	58

- Figure 10** : Graphique représentant la densité cellulaire de la moelle osseuse (%) chez les individus du groupe traitement (fer, n=8) et contrôle (saline, n=8) à t14j ainsi que chez les individus non anémiques (normaux, n=4) .....58
- Figure 11** : Graphique représentant la moyenne du pourcentage de réticulocytes et de polychromatophiles pour l'ensemble des individus des deux groupes (n=35) en fonction du temps .....60
- Figure 12** : Nuage de points illustrant la droite de régression linéaire de la différence du pourcentage des réticulocytes et des polychromatophiles (réti-poly) des individus des 2 groupes (n=33) en fonction de leur moyenne (%) .....61
- Figure 13** : Graphique représentant la moyenne des valeurs de CK plasmatique (U/L) des individus du groupe traitement (fer, n=8) et contrôle (saline, n=8) en fonction du temps (différences significatives \*p = 0,0002, \*\*p = 0,002) .....62
- Figure 14** : Photographie microscopique 100X (objectif 10X) d'une préparation histologique (coloration HPS) des muscles pectoraux au site d'injection du fer dextran montrant une infiltration modérée de macrophages et de lymphocytes localisée dans les tissus interstitiels et périvasculaires (t14j) chez une crécerelle d'Amérique .....63
- Figure 15** : Photographie microscopique 400X (objectif 40X) d'une préparation histologique (coloration HPS) des muscles pectoraux au site d'injection du fer dextran montrant l'importante phagocytose du fer (pigments or, flèches) par les macrophages (t14j) chez une crécerelle d'Amérique .....63
- Figure 16** : Photographie microscopique 400X (objectif 40X) d'une préparation histologique (coloration HPS) des muscles pectoraux au site d'injection de la saline ne présentant aucune infiltration de cellules inflammatoires (t14j) chez une crécerelle d'Amérique .....64
- Figure 17** : Graphique représentant la moyenne des valeurs de fer plasmatique ( $\mu\text{mol/L}$ ) des individus du groupe traitement (fer, n=8) et contrôle (saline, n=8) en fonction du temps .....65
- Figure 18** : Photographie microscopique 600X (objectif 60X) d'une préparation histologique (coloration bleu de Prusse) de moelle osseuse illustrant la faible présence de fer (coloré en bleu, flèches) à t14j chez une crécerelle d'Amérique .....66

- Figure 19** : Graphique représentant les réserves de fer de la moelle osseuse (%) chez les individus du groupe traitement (fer, n=8) et contrôle (saline, n=8) à t14j ainsi que chez des individus non anémiques (normaux, n=4) ..... 66
- Figure 20** : Photographie microscopique 400X (objectif 40X) d'une préparation histologique (HPS) de moelle osseuse ..... xxxi
- Figure 21** : Photographie microscopique 400X (objectif 40X) d'une préparation histologique (HPS) de moelle osseuse traitée à l'aide du logiciel *Image J* afin de mettre en évidence les régions occupées par du gras ..... xxxii
- Figure 22** : Graphique illustrant la moyenne des pourcentages de polychromatophiles des individus du projet pilote 2 (n=4) en fonction du nombre de phlébotomies ..... xxxix
- Figure 23** : Graphique illustrant les valeurs de fer plasmatique ( $\mu\text{mol/L}$ ) pour chacun des individus du projet pilote 2 (n=4) en fonction du nombre de phlébotomies ..... xl



## Liste des sigles et des abréviations

---

ADN : acide désoxyribonucléique	mg : milligramme
ANOVA : <i>analysis of variance</i>	mL : millilitre
ARN : acide ribonucléique	NBM : nouveau bleu de méthylène
CK : créatine kinase	PO : <i>Per os</i>
COP : Clinique des oiseaux de proie	ST : solides totaux
DL50 : taux de mortalité de 50 % des individus	t : temps
DMT1 : <i>Divalent metal transporter-1</i>	TIBC : <i>Total Iron-Binding Capacity</i>
EC : état de chair	U/L : unité par litre
EDTA : acide éthylène diamine tétra acétique	µm : micromètre
ELISA : <i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>	µmol/L : micromole par litre
EPO : érythropoïétine	
g : gramme	
G : gauge	
GR : globule rouge	
h : heure	
Hb : hémoglobine	
HPS : hématoxyline phyloxine safran	
Ht : hématocrite	
IM : intramusculaire	
IV : intraveineux	
j : jour	
kg : kilogramme	
(M : E) : (myéloïde : érythroïde)	



## Dédicace

---

*À Fred, Éric  
Mes parents et mes amis*





## Remerciements

---

Au Dr Guy Fitzgerald, pour avoir relevé le défi avec brio, pour son support, sa grande générosité ainsi que pour m'avoir communiqué toute sa passion

Au Dr Christian Bédard pour les bonnes idées, les analyses biochimiques et hématologiques ainsi que les excellentes blagues

Au Dr Stéphane Lair (et son acolyte Dr Sylvain Larrat ainsi que l'équipe du Centre québécois sur la santé des animaux sauvages) pour sa grande implication dans le projet et les analyses histologiques

Au Dr Alain Villeneuve pour ses bons conseils tout au long du projet

Aux Dres Martine Boulianne et Marie-Ève Nadeau pour avoir gentiment accepté de faire partie du jury d'évaluation de mon mémoire

À Guy Beauchamp pour sa grande disponibilité lors des analyses statistiques

Aux super auxiliaires de recherches, Émilie L. Couture et Cédric B. Larouche, sans qui les crécerelles n'auraient pas été aussi confortables et ventilées

À la Clinique des oiseaux de proie (et ses résidents, internes, étudiants) ainsi qu'à l'Union québécoise de réhabilitation des oiseaux de proie qui ont en grande partie permis la réalisation de ce projet

Au Dr David M. Bird de l'*Avian Science and Conservation Centre* du Collège MacDonald de l'Université McGill pour nous avoir fourni les crécerelles d'Amérique

À tous mes collègues de la promotion 2010, aux cliniciennes et techniciennes de la Clinique des animaux exotiques ainsi qu'à leur microscope



## Avant-propos

---

Une grande proportion des traitements administrés aux espèces aviaires viennent d'extrapolation de la médecine des mammifères. Étant donné la présence de mécanismes physiologiques particuliers chez les oiseaux, il est fort probable que plusieurs de ces traitements ont des modes d'action incompatibles ou encore qu'ils requièrent des posologies et des modes d'administration différents de ceux des mammaliens.

Beaucoup de ces traitements empiriques, telle que l'administration de 10 mg/kg de fer dextran, ont comme base un événement unique, une seule impression clinique favorable et ainsi perdure dans la littérature sans fondement scientifique sérieux. Ces traitements sont alors recommandés d'auteur en auteur sans jamais en connaître la source et l'efficacité réelle.

Par cette étude nous voulons donc contribuer à l'avancement de la médecine aviaire ainsi que celle des animaux de la faune. Un autre petit pas pour la communauté scientifique, mais assurément un grand battement d'ailes pour la médecine des oiseaux de proie.



# Introduction

---

L'anémie est une condition qui reflète un grand nombre de problèmes de santé tant chez les mammifères que chez les oiseaux. Le trauma étant la cause principale d'admission d'oiseaux de proie en centre de réhabilitation, l'anémie par perte de sang est donc fréquemment rencontrée chez les rapaces. Afin de lutter contre l'anémie, plusieurs traitements sont aujourd'hui décrits dans la littérature aviaire. Parmi ceux-ci, une administration intramusculaire de fer dextran de 10 mg/kg est couramment recommandée. L'efficacité de ce traitement semble cependant basée seulement sur des impressions cliniques. En effet, aucune étude scientifique rigoureuse n'a permis de confirmer les bienfaits d'une administration de fer intramusculaire dans le traitement de l'anémie et de l'hémorragie chez les oiseaux. Ce traitement n'est d'ailleurs utilisé qu'en dernier recours et uniquement en situation d'anémie par déficience en fer chez l'homme et les mammifères domestiques étant donné qu'il est associé à de nombreux effets secondaires.

L'objectif principal de notre étude est donc d'évaluer les effets d'une administration intramusculaire de fer dextran à 10 mg/kg chez des oiseaux de proie anémiques. Pour ce faire, deux types de spécimens seront utilisés. Des crécerelles d'Amérique issues de la captivité où une anémie par perte de sang externe aiguë sera créée afin de modéliser une hémorragie suite à un trauma. Des oiseaux de proie sauvages admis à la Clinique des oiseaux de proie de la Faculté de médecine vétérinaire et souffrant d'anémie de diverses formes. À l'aide de ces deux volets de notre étude, nous désirons répondre aux questions suivantes :

- L'administration du fer dextran est-elle bénéfique à la récupération d'oiseaux de proie atteints de différents types d'anémie ou l'est-elle pour un type particulier?

- Les oiseaux traités au fer dextran ont-ils une érythropoïèse plus importante ou plus rapide que ceux non traités?
- Les oiseaux traités au fer dextran ont-ils présenté des signes cliniques de l'anémie moins sévères ou d'une plus courte durée?
- Les oiseaux qui ont reçu du fer dextran ont-ils été hospitalisés moins longtemps que ceux non traités? Ont-ils eu une meilleure issue?
- Des effets néfastes sont-ils associés à l'administration de fer dextran intramusculaire?

En regard des informations de la littérature concernant le métabolisme du fer, nos hypothèses principales sont qu'une administration de fer aura un effet bénéfique sur la récupération d'oiseaux atteints d'anémie par déficience en fer uniquement et que ce traitement est associé à des effets secondaires.

En plus de ses objectifs principaux, la présente étude nous permettra d'évaluer si l'anémie est une condition fréquente chez les oiseaux de proie en centre de réhabilitation et de déterminer si une classification simple des différents types d'anémie est possible. Nous pourrions également étudier l'impact d'une administration de fer dextran intramusculaire sur les réserves de fer de l'organisme ainsi que comparer deux méthodes d'analyse hématologique de l'érythropoïèse, soit le calcul du pourcentage de polychromatophiles et de réticulocytes en anneau.

# Chapitre 1 – Revue de la littérature

---

## 1. L'hématologie aviaire

### 1.1. Les prélèvements sanguins

Les sites de ponction veineuse chez les espèces aviaires varient en fonction de la quantité de sang à prélever, de l'espèce ainsi que l'état de santé de l'animal. Les veines jugulaires, ulnaires ou basiliques ainsi que les veines métatarsiennes médiales sont les plus fréquemment utilisées chez les oiseaux de proie (Campbell & Ellis, 2007). La veine jugulaire a comme avantage de permettre le prélèvement d'un important volume de sang rapidement (Campbell & Ellis, 2007). L'emploi de la veine jugulaire droite est favorisé par rapport à la gauche étant donné son plus grand diamètre chez la majorité des espèces aviaires et qu'elle est parfois la seule présente (Campbell, 1994). Les prises de sang à la veine jugulaire ont cependant comme inconvénient la formation d'hématomes, étant donné le large espace sous-cutané présent au niveau de la veine ainsi que la très grande mobilité de celle-ci (Echols, 1999). Les veines ulnaires ou basiliques sont facilement accessibles, mais procurent de plus faibles volumes de sang (Campbell & Ellis, 2007). Chez les oiseaux de proie utilisés en fauconnerie, les veines métatarsiennes médiales sont particulièrement intéressantes. En effet, la formation d'hématome est peu fréquente (Campbell, 1994) et du sang peut-être prélevé de ces veines chez un oiseau maintenu sur un perchoir, et ce sans contention (Joseph, 2006). Pour éviter les erreurs d'interprétation à l'hémogramme, il n'est pas recommandé de prélever du sang des capillaires (par exemple à la suite de la coupe d'une griffe). En effet, ce type de sang diffère du sang veineux par sa distribution cellulaire et par la présence de débris (Campbell & Ellis, 2007). Afin d'éviter le collapsus veineux ainsi que les bris cellulaires, l'emploi d'aiguilles du plus grand diamètre possible (22 à 27G) et de seringues créant une faible pression négative (1 à 5 mL) est

préférée (Campbell & Ellis, 2007). Lorsque l'accès veineux est difficile, une aiguille montée sur un papillon peut être bénéfique (Campbell & Ellis, 2007).

Aucun anticoagulant n'est idéal en hématologie aviaire. Il semble cependant que l'héparine soit l'anticoagulant de choix pour l'analyse des globules rouges (GR) de même que l'acide éthylène diamine tétra-acétique (EDTA) en ce qui a trait à l'étude des leucocytes. En effet, en plus d'affecter la bonne coloration des globules blancs, l'héparine cause des artéfacts de comptage par l'aggrégation des leucocytes et des thrombocytes (Campbell, 1994; Fudge, 1997; Kossoff & Bladow, 1996). L'EDTA quant à lui influence la morphologie des GR et des leucocytes en fonction du temps (Campbell, 1994; Fudge, 1997; Kossoff & Bladow, 1996) et induit l'hémolyse chez certaines espèces telles que le corbeau, l'autruche et la dinde (Campbell, 1994; Samour, 2006). Certains auteurs affirment cependant que l'EDTA, utilisé en sa concentration optimale, ne cause pas d'aggrégation leucocytaire et est un anticoagulant de choix en hématologie aviaire (Campbell, 1995). Un avantage non négligeable de l'héparine est que ce milieu de conservation peut être utilisé pour d'éventuelles analyses biochimiques (Campbell & Ellis, 2007; Kossoff & Bladow, 1996). L'utilisation d'anticoagulant peut également provoquer une dilution des cellules sanguines et ainsi créer des artéfacts de lecture, telle qu'une diminution de l'hématocrite (Ht) (Campbell & Ellis, 2007). La meilleure méthode d'évaluation de la morphologie des cellules sanguines reste donc, lorsque possible, l'étalement de sang frais sans anticoagulant sur frottis (Campbell & Ellis, 2007).

L'analyse du frottis sanguin est à la base d'une bonne évaluation hématologique chez les oiseaux comme chez les mammifères. La majorité des vétérinaires aviaires utilisent la technique à deux lames microscopiques dans l'exécution des frottis sanguins (Clark et al, 2009). Comme pour les mammifères, cette technique consiste à mettre une goutte de sang sur une première lame et de réaliser un frottis à l'aide d'une deuxième lame placée à 30-45° sur la première. Cette dernière doit d'abord être dirigée vers l'arrière



pour rejoindre la goutte de sang et par la suite être glissée rapidement vers l'avant. Cette technique permet la bonne lecture du frottis sanguin par la formation d'une couche monocellulaire (Campbell & Ellis, 2007; Clark et al, 2009). À cause de la grande fragilité des cellules sanguines aviaires, il est recommandé d'employer des lames microscopiques préalablement nettoyées (Campbell, 1994). Certains auteurs préfèrent cependant l'emploi d'une lame microscopique et d'une lamelle ou encore l'utilisation de deux lamelles (Clark et al, 2009). Pour réaliser ces techniques, une goutte de sang est placée sur une lame microscopique ou sur une lamelle, une lamelle est déposée par-dessus, au niveau de la goutte de sang et ensuite rapidement glissée horizontalement pour créer un film cellulaire. Ces méthodes auraient l'avantage de créer moins de bris cellulaires (Clark et al, 2009; Echols, 1999; Fudge, 1997). Les colorants les plus fréquemment utilisés pour la lecture des frottis sanguins aviaires sont du type *Wright* ou *Wright-Giemsa* modifié (Campbell & Ellis, 2007). Les colorations rapides non automatisées, telles que le *Dip Quick* permet l'évaluation adéquate des frottis sanguins aviaires, mais ne serait cependant pas assez puissantes pour obtenir certains détails particuliers des leucocytes (Echols, 1999).

On estime le volume sanguin aviaire à environ 6-12 % de leur poids corporel (Sturkie & Griminger, 1986). Ce volume varie en effet d'une espèce à l'autre, soit environ 5 mL/100 g chez le faisan et 20,3 mL/100 g chez le pigeon (Campbell, 1994). De façon générale, on assume que le volume sanguin d'un oiseau en santé correspond à 10 % de son poids corporel (Echols, 1999) et qu'il est possible de prélever de manière sécuritaire 10 % de son volume sanguin, soit environ 1 % de son poids corporel (Campbell & Ellis, 2007). Les espèces aviaires sont beaucoup plus résistantes à une perte de sang que les mammifères (Sturkie & Griminger, 1986). Une étude réalisée par Kovach, Szasz et Pilmayer (1969) visant à déterminer le taux de mortalité suite à des prélèvements sanguins de 1 % du poids corporel par heure, a montré un taux de mortalité de 50 % des individus (DL50) suite au prélèvement de 3 % du

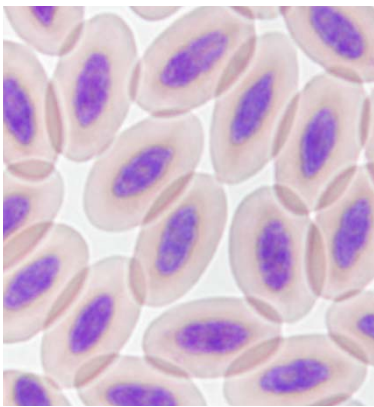
poids corporel chez le rat et le chat, de 4 % chez le chien et le faisan, de 5 % chez le corbeau et la poule, de 7 % chez le canard et près de 8 % chez le pigeon. Il a d'ailleurs fallu retirer pratiquement 100 % du volume sanguin des pigeons en 10 h pour obtenir 100 % de mortalité. Cette étude illustre également que les oiseaux adaptés au vol ou à la nage de longue distance sont beaucoup plus résistants aux pertes de sang et à l'hypoxie que les oiseaux confinés au sol. Suite à sept jours de phlébotomie consécutive et la perte de sang d'environ 124 % du volume sanguin chez la caille, aucune mortalité n'a été observée (Christie, 1978). Cette importante résistance à la perte de sang chez les oiseaux est explicable par l'absence de mécanisme menant au choc hypovolémique irréversible, leur importantes habileté et rapidité à mobiliser les fluides extravasculaires et leur capacité à mettre en circulation un grand nombre de GR immatures (Djojosingito et al, 1968; Finnegan et al, 1997; Gildersleeve et al, 1985a; Kovach et al, 1969; Ploucha et al, 1981; Sturkie & Griminger, 1986). Chez les mammifères, une importante perte de sang a pour effet d'augmenter la pression précapillaire par l'activation de barorécepteurs du système sympathicoadrénergique et ainsi provoquer la vasoconstriction active (Haddy et al, 1965). La mise en application prolongée de ce mécanisme entraîne une importante réduction de la perfusion tissulaire et peut mener au choc irréversible (Ploucha et al, 1981). Par l'utilisation d' $\alpha$  et de  $\beta$ -bloqueurs adrénergiques, Ploucha et son équipe (1981) ont constaté l'absence d'activation du système sympathicoadrénergique suite à d'importantes hémorragies chez le poulet. Lors de perte de sang aiguë, le poulet montre une résistance périphérique normale ou diminuée sans augmentation de la fréquence cardiaque, ce qui permet la bonne perfusion des muscles squelettiques. Aucun signe de choc irréversible, d'acidose ou d'hypoglycémie résultant d'une hypoxie n'a d'ailleurs été observé suite à une période prolongée d'hypotension de 4 h. L'absence de la mise en marche réflexe du système sympathicoadrénergique aurait donc un effet protecteur chez le poulet en empêchant la mauvaise perfusion tissulaire et ainsi le choc hypovolémique irréversible. Cette

protection n'est cependant pas présente chez toutes les espèces aviaires. En effet, une augmentation de la pression sanguine suite à une perte de sang via la vasoconstriction réflexe a été observée chez le pigeon et le canard (Djojosingito et al, 1968; Kovach et al, 1969). Il semble également que les prostaglandines responsables du choc chez les mammifères n'ont pas les mêmes fonctions chez les oiseaux et qu'elles n'ont pas d'implication dans la tolérance aux pertes sanguines chez le poulet (Sturkie & Griminger, 1986). D'autres caractéristiques physiologiques importantes des oiseaux leur permettant une forte résistance à l'hypovolémie sont la présence d'une diminution de la pression hydrostatique capillaire réflexe très efficace et une importante surface capillaire (Bartlett, 2007). Ces caractéristiques permettent aux oiseaux de restaurer rapidement leur volume sanguin par les fluides extravasculaires (Bartlett, 2007). En effet, la surface capillaire moyenne du canard est trois fois plus importante que celle du chat et est localisée en majorité dans les muscles squelettiques (Bartlett, 2007). Par simple mobilisation des fluides extravasculaires, il ne faut que 20 à 25 minutes au canard pour rétablir la totalité de son volume sanguin suite à une perte de sang de 13-15 %. (Djojosingito et al, 1968). La poule peut également restaurer 13-17% de son volume sanguin initial par heure lors des 90 premières minutes suivant une perte de sang, ce qui est le double de ce qu'on observe chez le chien (Hebert et al, 1989; Sturkie & Griminger, 1986). Une importante hémodilution a été observée chez le poulet et le pigeon à la suite d'une hémorragie indiquant une mobilisation importante des fluides extravasculaires chez ces oiseaux (Kovach & Balint, 1969; Ploucha et al, 1981).

## 1.2. Les érythrocytes

Contrairement aux mammifères, l'érythrocyte aviaire mature est de forme elliptique et possède un noyau central ovale (Figure 1) (Sturkie & Griminger, 1986; Thrall, 2004). Son cytoplasme est abondant et se colore rose-orangé

aux colorations standards (Campbell, 1994; Thrall, 2004). Ces cellules sont également de plus grandes tailles que leurs homologues mammifères, soit environ de 10,7 X 6,1  $\mu\text{m}$  à 15,8 X 10,2  $\mu\text{m}$  (Sturkie & Griminger, 1986) comparativement à 7,0 et 5,8  $\mu\text{m}$  de diamètre chez le chien et le chat respectivement (Reagan et al, 2008). Afin de pallier à la grande demande en oxygène, les érythrocytes ont tendance à être plus petits chez les oiseaux adaptés aux vols de longue distance, leur procurant ainsi une meilleure surface d'échange gazeux (Armand, 1986; Hodges, 1974).



**Figure 1** : Photographie microscopique 1000X (objectif 100X) d'un frottis sanguin (coloration *Dip Quick*) illustrant la présence d'érythrocytes aviaires matures chez une crécerelle d'Amérique

À cause de la faible capacité des GR aviaires à se déformer, le sang des oiseaux est très visqueux (Fudge, 1997; Smith et al, 2000; Sturkie & Griminger, 1986). Cette lacune est cependant compensée par l'importante densité capillaire (Fudge, 1997). Le métabolisme et la température corporelle élevée des oiseaux ont pour effet d'écourter la durée de vie des GR (Sturkie & Griminger, 1986). En effet, la durée de vie des érythrocytes varie de 28-35 jours chez le poulet, de 35-45 jours chez le pigeon, de 33-35 jours chez la caille, d'environ 42 jours chez le canard (Klein, 1959; Sturkie & Griminger, 1986) versus 100-115 jours chez le chien, environ 120 jours chez l'homme et 73 jours chez le chat (Christian, 2000). Comme chez les mammifères, l'hémoglobine (Hb) des érythrocytes aviaires contient quatre sous-unités

hème contenant du fer et une protéine, la globuline (Sturkie & Griminger, 1986). Cette dernière contient cependant du myoinositol pentophosphate (IP5), un composé ayant une plus faible affinité avec l'oxygène que le 2,3 diphosphoglycérate (DPG) de l'Hb des mammifères (Sturkie & Griminger, 1986). Cela a pour conséquence de déplacer la courbe de dissociation de l'oxygène vers la droite (Sturkie & Griminger, 1986) et serait associé à l'importante capacité d'extraction de l'oxygène par le système respiratoire aviaire (Armand, 1986).

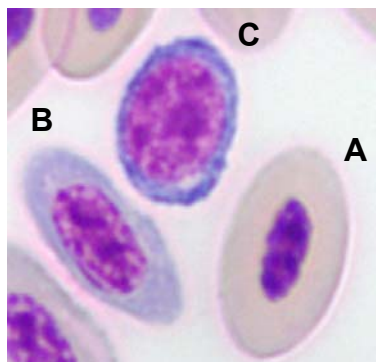
Diverses méthodes hématologiques sont utilisées pour faire l'évaluation érythrocytaire. Parmi les plus utilisées on note la lecture du frottis sanguin, l'obtention des valeurs d'Ht ainsi que le comptage des GR (Campbell & Ellis, 2007). L'Ht est facilement obtenu en mesurant la portion du volume du sang entier occupé par les érythrocytes via la centrifugation de capillaires à microhématocrite (Armand, 1986; Campbell & Ellis, 2007). Le plasma ainsi obtenu permet également l'évaluation des solides totaux (ST) à l'aide d'un réfractomètre (Campbell & Ellis, 2007). L'Ht normal des oiseaux varie entre 0,35 et 0,55 L/L (Dein, 1982; Jones, 1999; Porter, 2005; Thrall, 2004). Étant donné que l'ensemble des cellules hématopoïétiques aviaires sont nucléées, des biais sont inévitables lors du comptage des érythrocytes par des méthodes automatisées telles que le compteur électronique à impédance ou à la cytométrie de flux (Thrall, 2004). Certains auteurs recommandent tout de même l'utilisation de compteur automatisé, car une très faible proportion de leucocytes et de thrombocytes (0,1 %) sont généralement présents dans la circulation périphérique (Campbell & Ellis, 2007). Ce comptage peut également être ajusté par des facteurs de corrections (Mitchell & Johns, 2008). Des méthodes de comptage manuel tel que l'*Unopette* ou la *Natt and Herrick's* sont fréquemment utilisées (Campbell & Ellis, 2007).

Le nombre de GR, l'Ht et l'Hb sont influencés par divers paramètres tels que l'âge, le sexe, les hormones, l'hypoxie, les facteurs environnementaux et les maladies (Hebert et al, 1989; Howlett et al, 2002; Sturkie & Griminger, 1986).

Il a été démontré chez trois espèces d'outardes qu'avec une augmentation de l'âge, le comptage des GR ainsi que des valeurs d'Ht et d'Hb augmentent entre quatre et 24 semaines (Howlett et al, 2002). Plusieurs études ont permis de constater que les mâles ont des valeurs érythrocytaires supérieures aux femelles. L'une d'entre elles a été réalisée chez des mâles et des femelles sexuellement immatures et a démontré une diminution du nombre de GR suite à l'administration d'estrogène chez les deux sexes et une augmentation de ce nombre par l'administration d'androgène, ce qui suggère un effet de ces hormones sur l'érythropoïèse (Sturkie & Griminger, 1986). La thyroxine aurait également un effet stimulant sur l'érythropoïèse (Sturkie & Griminger, 1986). Tout comme pour les mammifères, il a été démontré que le poulet, le pigeon et la caille ont la capacité d'augmenter leur Ht ainsi que leur nombre de GR en situation d'hypoxie (Sturkie & Griminger, 1986). Les oiseaux migrateurs ont d'ailleurs une meilleure capacité d'augmenter ces valeurs durant la migration afin de compenser avec la forte demande en oxygène de la musculature et le faible niveau d'oxygène en altitude (Landys-Ciannelli et al, 2002). Les périodes sans luminosité, les températures élevées, les forts niveaux de fer et de cuivre de la diète ont aussi comme effet d'augmenter l'Ht chez le poulet (Sturkie & Griminger, 1986; Zhou et al, 1998). Il est cependant probable que cette variation des paramètres érythrocytaires soit moins probante chez certaines espèces. En effet, aucune variation de l'Ht n'a été observée en fonction du sexe, de l'âge, de la saison et l'abondance de proie chez des crécerelles d'Amérique sauvages (Dawson & Bortolotti, 1997).

Étant donné la courte durée de vie des GR aviaires, il est habituel d'apercevoir un certain nombre d'érythrocytes immatures à la lecture du frottis sanguin (Campbell & Ellis, 2007). Les polychromatophiles ainsi observés possèdent un cytoplasme plus basophile avec un noyau moins condensé que les GR matures (Figure 2) (Campbell & Ellis, 2007; Thrall, 2004). Un pourcentage de 5 % et moins de polychromatophiles dans le sang

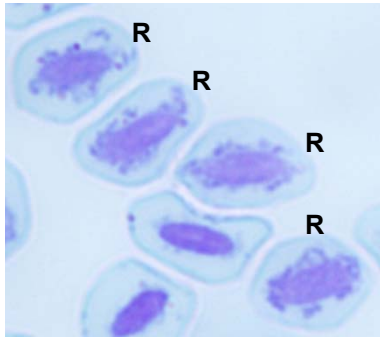
périphérique est considéré normal chez la majorité des espèces aviaires (Campbell & Ellis, 2007). Des valeurs variant entre 3 et 5 % ont été observées chez des rapaces en santé (Joseph, 1999) ainsi qu'entre 0,6 et 8 % chez des espèces de psittacidés (Johns et al, 2008).



**Figure 2 :** Photographie microscopique 1000X (objectif 100X) d'un frottis sanguin (coloration *Dip Quick*) illustrant la présence d'un érythrocyte (A), d'un polychromatophile (B) et d'un rubricyte (C) chez une crécerelle d'Amérique

Les polychromatophiles correspondent au dernier stade de développement des érythrocytes avant la maturité et sont l'équivalent des réticulocytes observés à la coloration nouveau bleu de méthylène (NBM) (Campbell & Ellis, 2007). En général, la coloration au NBM est effectuée avant la réalisation du frottis sanguin en mélangeant le colorant au sang. Cette coloration a pour fonction de mettre en évidence l'ARN cytoplasmique résiduel (ribosome) des cellules immatures en le colorant en bleu (Bounous & Stedman, 2000; Clark et al, 2009). Il n'existe toujours pas de méthode standardisée de coloration et d'identification des réticulocytes aviaires, ce qui se reflète par un manque d'uniformité dans les résultats des comptages (Armand, 1986; Coates & March, 1966). On classifie les réticulocytes sous quatre formes : la forme ponctuée-1 où moins de dix ribosomes sont observés dans le cytoplasme, la forme ponctuée-2 où dix ribosomes et plus sont visibles, la forme agrégée présentant des regroupements de ribosomes distribués diffusément dans le cytoplasme et finalement la forme anneau où les ribosomes sont agrégés autour du noyau formant un anneau contigu ou

non (Johns et al, 2008). Étant donné que la plupart des GR présentent un certain degré de coloration au NMB, la majorité des ouvrages de référence recommande de considérer uniquement la forme anneau dans la détermination du pourcentage réticulocytaire (Figure 3) (Campbell & Ellis, 2007; Johns et al, 2008; Thrall, 2004).



**Figure 3 :** Photographie microscopique 1000X (objectif 100X) d'un frottis sanguin (coloration NMB) illustrant la présence de réticulocytes en anneau (R) chez une crécerelle d'Amérique

Une étude récente de Johns et son équipe (2008) a démontré une forte corrélation entre le pourcentage de polychromatophiles et des réticulocytes en anneau comparativement aux autres formes réticulocytaires. Le comptage des réticulocytes en anneau est également associé à moins de variation entre les observateurs comparativement au comptage des polychromatophiles (coefficient de variation de 8,4 % et 19,4 % respectivement), elle serait donc une méthode plus reproductible. Cette étude a aussi permis l'évaluation de la qualité des frottis sanguins suite à diverses dilutions du sang dans le colorant (1 : 1, 1 : 2, 1 : 3 et 1 : 4) et différents temps d'attente (5, 10, 30, 60 minutes). D'après leurs observations, la meilleure méthode d'évaluation des réticulocytes aviaires est la dilution de 1 : 3 avec un temps d'attente de dix minutes. Ceux-ci ont également établi que la dilution 1 : 1, peu importe le temps d'attente, procure une trop faible coloration et serait donc une méthode inacceptable.



### 1.3. L'érythropoïèse

L'érythropoïèse aviaire débute dans le sac vitellin de l'œuf pour ensuite former des sites hématopoïétiques dans le foie, la rate et la moelle osseuse (Romanoff, 1960; Schepelmann, 1990). La moelle osseuse est le principal site de l'érythropoïèse chez les oiseaux du stade embryonnaire jusqu'à l'éclosion (Campbell, 1967; Schepelmann, 1990). Comparativement aux mammifères, l'activité hématopoïétique du foie et de la rate est assez faible (Romanoff, 1960). La formation des érythrocytes de la moelle osseuse s'effectue d'abord dans les os du squelette axial pour ensuite se diriger vers le squelette appendiculaire vers six mois d'âge (Schepelmann, 1990). À ce moment, un tiers de l'activité érythropoïétique est présente dans le fémur (Schepelmann, 1990). À maturité, l'érythropoïèse aviaire se poursuit principalement dans la moelle osseuse du squelette et est très peu active dans les os pneumatisés (Schepelmann, 1990). La formation des GR peut cependant avoir lieu dans du tissu osseux externe au squelette tel que les anneaux de la trachée, des tendons ossifiés, du tissu osseux ectopique pulmonaire ou toutes autres régions de métaplasie osseuse (Barnes et al, 2008). Lors de forte demande de la moelle osseuse, comme lors d'anémie, une hématopoïèse extramédullaire peut aussi survenir dans le foie, l'intestin, la rate, les reins, le thymus, les gonades, le cœur, les nerfs, le diverticule de Meckel ou la bourse de Fabricius (Barnes et al, 2008).

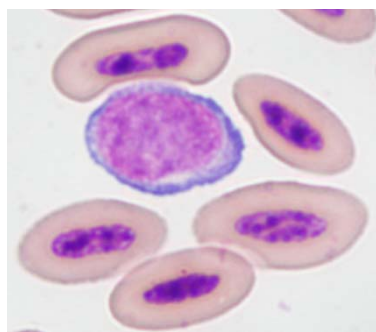
Contrairement aux mammifères où la granulopoïèse et l'érythropoïèse ont lieu dans l'espace extravasculaire du stroma de la moelle osseuse, les GR aviaires sont formés dans la lumière des sinusoides de la moelle osseuse (Barnes et al, 2008; Campbell, 1967; Hodges, 1974). Les plus jeunes cellules érythroïdes se retrouvant à la périphérie des sinusoides et les plus matures au centre de ceux-ci (Campbell, 1967; Hodges, 1974; Sturkie & Griminger, 1986). Les granulocytes en fin de maturation entrent éventuellement dans les sinus de la moelle osseuse pour se retrouver en circulation (Barnes et al,

2008; Campbell, 1967). La moelle osseuse aviaire a également la particularité de contenir de denses amas de tissu lymphatique (plus ou moins associé aux cellules myéloïdes) localisés près des artères du tissu extrasinusoïdal (Campbell, 1967; Sturkie & Griminger, 1986). La population lymphocytaire de la moelle osseuse a tendance à augmenter avec l'âge de l'oiseau étant donné l'augmentation du nombre de stimulations antigéniques (Barnes et al, 2008). On retrouve dans la littérature divers types de classification des cellules érythroïdes en développement au niveau de la moelle osseuse. Parmi celles-ci, la plus utilisée présente six stades de développement précédant les érythrocytes matures. Ces stades vont de la plus jeune cellule à la plus mature (Campbell & Ellis, 2007) :

- 1- Rubriblaste
- 2- Prorubricyte
- 3- Rubricyte
  - a. Rubricyte basophile
  - b. Jeune rubricyte polychromatique
  - c. Rubricyte polychromatique tardif
- 4- Polychromatophile
- 5- Érythrocyte mature

Pendant leur maturation, les cellules érythroïdes passeront d'une cellule de forme plutôt ronde avec un gros noyau rond et un cytoplasme basophile vers une cellule de forme ellipsoïde avec un noyau ovale à la chromatine condensée et au cytoplasme plus abondant et éosinophile (Campbell & Ellis, 2007). Le changement de coloration du cytoplasme vient de l'augmentation du niveau d'Hb dans la cellule (Campbell & Ellis, 2007). Les rubriblastes sont de grandes cellules rondes au cytoplasme basophile et possédant un large noyau rond central (ratio nucléo-cytoplasmique élevé). Le noyau possède une chromatine généralement d'apparence granulaire et un large nucléole. Le cytoplasme présente également une région claire correspondant à l'espace mitochondrial (Campbell & Ellis, 2007) (Figure 4). Contrairement aux rubriblastes, les prorubricytes ne possèdent pas d'espace mitochondrial ni de

nucléole proéminent. Le cytoplasme présente cependant des dépôts de matériel basophile qui suggèrent le développement de l'Hb (Campbell & Ellis, 2007). Les rubricytes sont quant à eux des cellules de plus petite taille. Tout au long de leur développement, ils passeront d'une cellule ronde au noyau rond et au cytoplasme très basophile (rubricyte basophile) vers une cellule de forme plutôt ellipsoïde au noyau de plus en plus ovale et au cytoplasme plus éosinophile (Figure 2) (Campbell & Ellis, 2007). L'apparence des polychromatophiles et des érythrocytes matures ont été décrits à la section précédente (1.2. Les érythrocytes).



**Figure 4 :** Photographie microscopique 1000X (objectif 100X) d'un frottis sanguin (coloration *Dip Quick*) illustrant la présence d'un rubriblaste ou d'un prorubricyte chez une crécerelle d'Amérique

Comme pour les mammifères, l'érythropoïèse aviaire est stimulée par l'hypoxie ainsi que la perte de sang et est supprimée par la polycythémie (Rosse & Waldmann, 1966; Sturkie & Griminger, 1986). L'érythropoïétine (EPO) ainsi que le facteur de stimulation de l'EPO seraient les deux premières hormones sécrétées afin de stimuler la prolifération des cellules érythroïdes de la moelle osseuse (Jenkins, 1997). La fonction et l'origine exacte de l'EPO aviaire ne sont toujours pas élucidées à ce jour, mais cette dernière a été identifiée dans le sang d'oiseaux anémiques (Campbell & Ellis, 2007). Jusqu'à présent, on prétend également que l'EPO aviaire originaire du tissu rénal comme chez les mammifères (Campbell & Ellis, 2007). L'EPO aviaire posséderait cependant des caractéristiques différentes des mammifères étant donné qu'elle ne permet pas la stimulation de

l'érythropoïèse chez les mammifères et l'EPO des mammifères ne stimule guère le développement des GR aviaires au niveau de la moelle osseuse (Rosse & Waldmann, 1966). Cela pourrait prendre origine de différences structurales, telles que l'absence d'acide sialique chez l'EPO aviaire (Armand, 1986).

## **2. L'anémie chez les oiseaux de proie**

### **2.1. Les types d'anémie et leur prévalence**

L'anémie est un trouble hématologique caractérisé par une diminution du transport de l'oxygène par l'hémoglobine des érythrocytes causant l'hypoxie (Campbell & Ellis, 2007). Comme chez les mammifères, l'anémie chez les oiseaux peut être subdivisée en anémie régénératrice ou non régénératrice et être regroupée en trois grandes catégories, soit l'anémie par perte de sang, par hémolyse ou par dépression de la moelle osseuse (Tableau I) (Bartlett, 2007; Campbell, 1994; Campbell & Ellis, 2007; Dein, 1982; Dein, 1983; Jones, 1999; Joseph, 1999; Rupley, 1997a; Samour, 2006; Thrall, 2004).

L'anémie est qualifiée de régénératrice lorsqu'une grande quantité d'érythrocytes immatures se retrouve en circulation. Cela démontre une réponse appropriée de la moelle osseuse à la demande de nouveaux GR suite à une perte de sang ou une hémolyse (Jones, 1999). On parle en règle générale, d'une bonne réponse de la moelle osseuse face à l'anémie lorsque le frottis sanguin présente 10 % et plus de polychromatophiles ou de réticulocytes (Campbell, 1991; Dein, 1982). Lors de dépression de la moelle osseuse, celle-ci ne peut répondre de manière adéquate à l'anémie. Cette dernière est alors qualifiée de non régénératrice (Jones, 1999).

**Tableau I :** Classification des types d'anémie fréquemment rencontrés chez les espèces aviaires (Bartlett, 2007; Campbell, 1994; Campbell & Ellis, 2007; Dein, 1982; Dein, 1983; Jones, 1999; Joseph, 1999; Rupley, 1997a; Samour, 2006; Thrall, 2004)

Anémie régénératrice		Anémie non régénératrice
Perte de sang	Hémolytique	Dépression de la moelle osseuse
<b>Hémorragie externe</b> (fracture ouverte, plaie, ulcère gastro-intestinal, perte génito-urinaire, néoplasme)	<b>Maladie infectieuse</b>	<b>Déficiences nutritionnelles / Inanition</b>
<b>Hémorragie interne</b> (trauma, rupture d'organe, chirurgie)	<b>Septicémie bactérienne</b> (salmonellose, spirochétose)	<b>Hémorragie externe chronique</b>
<b>Parasitisme</b> (tique, mite, hippoboscis, coccidie, autres parasites gastro-intestinaux)	<b>Parasite sanguin</b> ( <i>Plasmodium</i> , <i>Haemoproteus</i> , <i>Leucocytozoon</i> , <i>Aegyptianella</i> )	<b>Condition chronique</b> (tuberculose, chlamyphilose, aspergillose, mycobactériose, néoplasme, coelomite, problème hépatique/rénal)
<b>Problème de coagulation secondaire/toxicité</b> (aflatoxine, rodenticide, problème hépatique)	<b>Toxicité</b> (dérivés du pétrole, aflatoxine, plantes toxiques, métaux lourds)	<b>Toxicité</b> (plomb, aflatoxine, pesticide, sélénium)
<b>Problème de coagulation primaire</b>	<b>Maladie à médiation immunitaire</b>	<b>Traitements médicaux</b> (fenbendazole, chloramphénicol)
	<b>Réaction transfusionnelle</b>	<b>Infection virale</b>
		<b>Leucémie</b>
		<b>Hypothyroïdisme</b>

L'anémie par perte de sang suite à des hémorragies internes et/ou externes est le type d'anémie le plus fréquemment rencontré chez les oiseaux de proie

(Bartlett, 2007; Quesenberry & Hillyer, 1994; Redig, 1992). En effet, une grande proportion des oiseaux de proie admis en centre de réhabilitation présente des signes de trauma souvent associés à des collisions avec des installations humaines (véhicules, fenêtres, lignes électriques) (Redig, 1992).

Tel que mentionné précédemment, les oiseaux sont caractérisés par une importante résistance à une grande perte de sang. En effet, des expérimentations ont permis de créer une anémie par perte de sang chez des pigeons à la suite de deux phlébotomies de 3-4 % du poids corporel des oiseaux à 6 h d'intervalle (Bos et al, 1992) et suite à un prélèvement sanguin de 30 % du volume sanguin chez des cailles (Gildersleeve et al, 1985b). Des problèmes de coagulation secondaire à des intoxications aux rodenticides sont également rapportés à l'occasion chez les rapaces (Redig, 1992).

Bien que la présence de parasites sanguins chez les oiseaux de proie soit relativement fréquente, ceux-ci sont cependant rarement associés à des signes cliniques ou des effets néfastes tels que l'anémie hémolytique (Joseph, 2006; Olsen & Gaunt, 1985). Les hémoparasites semblent tout de même associés à des temps de réhabilitation plus longs et à des taux de mortalité plus élevés (Olsen & Gaunt, 1985). L'incidence d'infection à *Leucocytozoon* et à *Haemoproteus* serait aussi plus importante chez les oiseaux de proie captifs (Ziman et al, 2004) et chez les strigiformes (Joseph, 2006). Il est à noter qu'*Aegyptianella*, est un parasite transmis par des tiques et qu'il est absent de l'Amérique du Nord (Castle & Christensen, 1985).

Plusieurs auteurs affirment que l'anémie par dépression de la moelle osseuse suite à une condition chronique est fréquemment observée chez les oiseaux non domestiques (Campbell, 1995; Fudge, 1989; Jones, 1999). Ce type d'anémie serait en fait plus important chez les oiseaux que les mammifères étant donné la courte durée de vie des GR aviaires (Campbell, 1995; Fudge, 1989; Jones, 1999). D'autres prétendent au contraire que l'anémie de condition chronique est rarement observée chez les oiseaux (Fudge, 1997).

L'anémie par déficience nutritionnelle est également courante chez les oiseaux sauvages malades ou blessés ainsi que les très jeunes ou très vieux oiseaux, car ceux-ci sont moins habiles à chasser (Redig, 1992). Les intoxications au plomb sont également une des causes fréquentes d'anémie non régénératrice en centre de réhabilitation des oiseaux de proie (Redig, 1992).

## 2.2. Le diagnostic de l'anémie

### 2.2.1. Le diagnostic clinique

Les signes cliniques de l'anémie chez les espèces aviaires incluent la présence de faiblesse, de dépression, de muqueuses pâles, un pouls de mauvaise qualité, une diminution de la taille des veines ulnaires, des extrémités froides, de la tachypnée, de la tachycardie ou la présence d'un souffle cardiaque (Bartlett, 2007; Mitchell & Johns, 2008; Quesenberry & Hillyer, 1994). Lors d'anémie par déficience en fer, on rapporte également un changement de coloration du plumage et particulièrement une diminution de l'intensité de la coloration des plumes rouges et noires (Klasing, 1998).

### 2.2.2. Le diagnostic hématologique

Un diagnostic d'anémie peut être posé en présence d'une diminution des valeurs d'Ht, d'Hb et du comptage du nombre de GR (Rupley, 1997a; Sturkie & Griminger, 1986).

L'évaluation de l'Ht est le moyen le plus simple et le plus rapide d'obtenir un diagnostic d'anémie. En général, on considère un oiseau anémique si son Ht est inférieur à 0,35 L/L (Campbell & Ellis, 2007; Joseph, 1999; Thrall, 2004). La lecture de l'Ht en combinaison avec les ST du plasma peut également nous orienter quant au type d'anémie présent (Bartlett, 2007). Une baisse de l'Ht accompagnée d'une baisse des ST suggère fortement une anémie par

perte de sang ou une anémie par déficience nutritionnelle (Bartlett, 2007). En effet, lors d'hémorragie, les protéines du plasma sont perdues en même temps que les érythrocytes et en situation de déficience nutritionnelle, il y a diminution de l'apport en protéine et de composés essentiels à la formation des GR, tel que le fer (Bartlett, 2007). Une baisse de l'Ht avec des ST normaux nous dirige plutôt vers un diagnostic d'anémie par dépression de la moelle osseuse (autre que la déficience nutritionnelle) et une anémie hémolytique étant donné qu'elles impliquent uniquement les cellules sanguines (Bartlett, 2007). La présence d'un plasma rougeâtre peut également indiquer une hémolyse (Bartlett, 2007).

En plus du comptage des GR décrit précédemment (1.2. Les érythrocytes), des analyses de laboratoire peuvent être effectuées afin de déterminer la concentration en Hb des érythrocytes par détection colorimétrique de la cyanméthémoglobine (Campbell & Ellis, 2007). Comparativement aux mammifères, la mesure de l'Hb chez les oiseaux est compliquée par le fait que les érythrocytes matures sont nucléés (Samour, 2006). En effet, les méthodes d'analyses colorimétriques sont utilisées suite à une lyse préalable des GR et emploient des facteurs de corrections afin d'éviter l'interférence causée par la présence de noyaux libres dans l'échantillon. (Samour, 2006). À l'aide du comptage des GR et des valeurs d'Hb, il est possible de calculer des indices hématologiques secondaires, tels que le volume globulaire moyen (volume de GR/comptage GR), l'hémoglobine globulaire moyenne (Hb/comptage GR) et la concentration globulaire moyenne en hémoglobine (Hb/Ht) (Campbell & Ellis, 2007).

La lecture du frottis sanguin peut également orienter notre diagnostic vers un type d'anémie en particulier. Par exemple, un fort degré d'anisocytose associé à une anisochromie est suggestif d'une anémie régénératrice étant donné la présence d'une importante population de GR immatures en circulation (Campbell & Ellis, 2007). Ce phénomène peut être confirmé en microscopie par le pourcentage des polychromatophiles ou des réticulocytes.



Le pourcentage est généralement réalisé manuellement en microscopie par le décompte de plus de 500 GR (agrandissement 1000 X) (Fernandez & Grindem, 2000). Comme mentionné précédemment, on qualifiera l'anémie de régénératrice si le pourcentage est supérieur à 10 % (Campbell, 1991). Le pourcentage des réticulocytes ou des polychromatophiles est le meilleur indicateur hématologique de l'activité érythropoïétique et permet une bonne classification de l'anémie (Cramer & Lewis, 1972; Fernandez & Grindem, 2000). Contrairement aux mammifères, les valeurs absolues de comptage des cellules érythroïdes immatures ne sont pas utilisées de routine chez les espèces aviaires. Des méthodes d'évaluation microscopique semi-quantitatives sont cependant décrites (Campbell & Ellis, 2007). Lors de forte régénérescence de la moelle osseuse, les polychromatophiles sont souvent accompagnés par des cellules érythroïdes à des stades plus précoces de développement (rubricytes, prorubricytes, rubriblastes) (Campbell & Ellis, 2007). Pour pallier la grande demande érythrocytaire, les cellules érythroïdes immatures sont relâchées directement dans la circulation sanguine avant même d'avoir terminé leur maturation dans la moelle osseuse (Campbell & Ellis, 2007). Dans ces situations, il est également possible d'observer des GR binucléés ou présentant des figures mitotiques dans le sang périphérique (Campbell & Ellis, 2007; Romagnano et al, 1994; Thrall, 2004). D'autres indices de l'origine de l'anémie peuvent également être rapidement aperçus à la lecture du frottis sanguin, tels que la présence de parasites sanguins (anémie hémolytique), un faible compte plaquettaire (anémie par perte de sang, coagulopathie), une importante leucocytose (anémie par dépression de la moelle osseuse, condition chronique) (Bartlett, 2007). La présence de GR hypochromes suggère une anémie par déficience en fer, de condition chronique ou une intoxication aux métaux lourds, tels que le plomb (Campbell & Ellis, 2007; Thrall, 2004). Une microcytose peut également indiquer une anémie par déficience en fer (Cotter, 2001). Lorsque le fer est peu abondant dans l'organisme, une plus faible quantité d'Hb est formée, causant une coloration pâle des GR (Cotter, 2001). Étant donné que la division cellulaire

des GR est contrôlée par le niveau d'Hb de la cellule, une déficience en fer a pour effet d'augmenter le nombre de divisions cellulaires et ainsi former des cellules de plus petite taille (Cotter, 2001). Les corps de Heinz peuvent, quant à eux, être observés lors de dommages oxydatifs (Campbell & Ellis, 2007).

### 2.2.3. L'évaluation de la moelle osseuse

L'analyse directe de la moelle osseuse par la cytologie ou l'histopathologie est un moyen invasif, mais très représentatif de la réponse de la moelle osseuse suite à une anémie (Campbell & Ellis, 2007; Rupley, 1997a). Les échantillons de moelle osseuse aviaire sont généralement prélevés au niveau du tibiotarse ou du sternum, car ces sites sont faciles d'accès et présentent une grande quantité de moelle osseuse (Thrall, 2004). L'évaluation de la densité cellulaire estime la proportion de la moelle osseuse comprenant des cellules par rapport à celle occupée par du gras. Grâce à cette évaluation, un diagnostic d'hypoplasie ou d'hyperplasie de la moelle osseuse peut être posé et ainsi indiquer la présence d'une anémie par dépression de la moelle osseuse ou d'une anémie régénératrice (Barnes et al, 2008). Pour ce faire, des méthodes d'évaluation semi-quantitatives ou des calculs informatisés de ratios de surface sont les plus souvent utilisés en médecine aviaire. (Strasser et al, 1998). La moelle osseuse aviaire étant très réactive, les changements de densité cellulaire sont observables très rapidement suite à une atteinte de celle-ci (Barnes et al, 2008). Chez les mammifères, on considère comme normale une densité cellulaire de 50 % (Thrall, 2004). Chez la majorité des espèces aviaires, l'activité érythropoïétique et granulopoïétique de la moelle osseuse est équivalente procurant à celle-ci un ratio de cellules myéloïdes versus érythroïdes (ratio M : E) près de 1 (Barnes et al, 2008; Bartholomew et al, 1998). En présence d'une demande régulière en cellule myéloïde, un fort ratio M : E est suggestif d'une anémie par dépression de la moelle osseuse tandis qu'une perte de sang diminue ce ratio de manière importante (Aird, 2000).

## 2.3. Les traitements de l'anémie

Plusieurs types de traitements sont utilisés afin de combattre l'anémie chez les oiseaux de proie. Ceux-ci vont bien sûr varier en fonction du type d'anémie et de sa sévérité.

### 2.3.1. La fluidothérapie

L'administration de fluides est généralement essentielle au traitement de l'anémie, et ce, particulièrement en cas d'importantes pertes de sang où la bonne perfusion des organes et tissus est nécessaire (Aird, 2000). Les besoins hydriques des espèces aviaires sont estimés à environ 50 mL/kg/j (Martin & Kollias, 1989). Comme pour les mammifères, le déficit est calculé en fonction de pertes liquides et du niveau de déshydratation de l'oiseau (Quesenberry & Hillyer, 1994). Pour une bonne réhydratation, les oiseaux doivent recevoir l'équivalent de leurs besoins quotidiens en plus de la moitié de leur déficit sur les premières 24 h, le reste du déficit étant comblé dans les 48 h suivantes (Quesenberry & Hillyer, 1994). Le mode d'administration des fluides varie en fonction de la sévérité de l'anémie. Généralement, lors d'anémie par perte de sang, les voies intraveineuse et intraosseuse sont préconisées pour permettre le rétablissement rapide d'une perfusion normale (Graham & Heatley, 2007). Les oiseaux supportent très bien des bolus intraveineux de 10-25 mL/kg (Abou-Madi & Kollias, 1992; Graham & Heatley, 2007). Le type de fluide à administrer diffère également d'une situation à l'autre. Les cristalloïdes isotoniques, tel que la solution de Lactate de Ringer (LRS) et la saline (NaCl 0,9 %) sont efficaces dans le traitement de l'anémie chez les oiseaux. En effet, la simple administration de NaCl 0,9 % a permis la récupération rapide de pigeons anémiques suite à une perte de sang externe aiguë (Bos et al, 1992). Les cristalloïdes seraient d'ailleurs plus efficaces que les colloïdes dans le contrôle des hémorragies chez les oiseaux (Lichtenberger, 2004a). Certains estiment que l'administration de fluides chez

les oiseaux a un effet positif direct sur l'érythropoïèse (Schindler et al, 1987). Lors de suspicion de trauma crânien, l'utilisation de cristalloïde hypertonique n'est cependant pas recommandée (Powers, 1997). Les colloïdes synthétiques, tels que l'hetastarch (10-15 mL/kg IV aux 8 h pour un à quatre traitements) sont également bénéfiques en situation d'anémie avec hypoprotéïnémie chez les oiseaux (Bartlett, 2007; Lichtenberger et al, 2009; Powers, 1997).

### 2.3.2. La transfusion sanguine

Étant donné le manque d'information sur les effets d'une transfusion sanguine chez les oiseaux, ainsi que la faible disponibilité des donneurs de sang, ce traitement de l'anémie est peu utilisé en médecine aviaire (Bos et al, 1992). Celle-ci a tout de même été montrée efficace et est recommandée lors d'anémie non régénératrice et de coagulopathie (Bartlett, 2007; James et al, 1998; Rupley, 1997b). La plupart des auteurs considèrent que les oiseaux ayant une forte anémie, soit un Ht < 0,20 L/L sont de bons sujets à la transfusion (Bos et al, 1992; Mitchell & Johns, 2008; Rupley, 1997b). La transfusion sanguine peut facilement être administrée par voie intraveineuse ou intraosseuse (Lichtenberger, 2004b). Lorsque possible, il est préférable de procéder à une transfusion sanguine homologue (donneur et receveur de la même espèce) plutôt qu'hétérologue (espèces d'oiseaux différentes) (Bartlett, 2007; Bos et al, 1992). En effet, une étude réalisée chez les pigeons a montré une efficacité supérieure de la transfusion sanguine homologue dans le traitement de l'anémie par perte de sang aiguë (Bos et al, 1992). En effet, la durée de vie des GR chez le receveur est beaucoup plus longue à la suite d'une transfusion autologue ou homologue (demi-vie de 9-11 jours) qu'une hétérologue (demi-vie de 2-3 jours) (Degernes, 1997). L'hémolyse des GR issus d'une transfusion hétérologue débute 24 h suite à la transfusion (Bos et al, 1992; Sandmeier et al, 1994). Malgré son faible niveau d'efficacité, la transfusion sanguine hétérologue simple semble tout de même sécuritaire

chez les espèces aviaires (Altman, 1983; Degernes, 1997; Harrison, 1977; Sandmeier et al, 1994). La transfusion sanguine hétérologue multiple est par contre associée à des réactions transfusionnelles fatales et une forte diminution de son bénéfice (Altman, 1983). La demie vie des GR diminuerait à 24 et 12 h suite à la deuxième et troisième transfusion hétérologue (Degernes, 1997). Même si peu d'information est à ce jour disponible sur les groupes sanguins aviaires et leur implication lors de transfusion (Mitchell & Johns, 2008), il est recommandé de procéder à des tests de type *crossmatch* avant une transfusion sanguine homologue ou hétérologue (Bartlett, 2007).

### 2.3.3. L'Oxyglobin®

L'Oxyglobin® est un excellent substitut au transport de l'oxygène lorsque la transfusion sanguine est impossible (Callan & Rentko, 2003). Elle est composée d'Hb bovine polymérisée et purifiée en suspension dans une solution de Lactate de Ringer modifiée (Callan & Rentko, 2003). Sa viscosité étant plus faible que le sang entier, lui procure une meilleure circulation et un meilleur potentiel d'oxygénation des tissus (Callan & Rentko, 2003). Grâce à sa moins bonne affinité à l'oxygène que l'Hb, 1 g d'Oxyglobin® a la capacité de livrer la même quantité d'oxygène que 2 à 3 g d'Hb canine (Callan & Rentko, 2003). L'Oxyglobin® a l'avantage de ne pas nécessiter de donneur de sang, de n'exiger aucun test de compatibilité préalable et d'offrir de faibles risques de réaction anaphylactique et de transmission de maladie (Callan & Rentko, 2003). Par son effet colloïde, l'Oxyglobin® a également la capacité de maintenir un bon volume de sang et est un excellent traitement contre l'anémie avec hypovolémie (Callan & Rentko, 2003). Son efficacité est dix fois supérieure au sang en situation de choc hypovolémique (Lichtenberger, 2004a). À cause de cet effet colloïde, il faut cependant rester prudent dans son administration afin d'éviter la surcharge vasculaire (Bartlett, 2007). L'administration de l'Oxyglobin® est recommandée chez les mammifères domestiques dans le traitement de l'anémie hémolytique et par perte de

sang. La transfusion sanguine restant la meilleure option de traitement dans les cas d'anémie par dépression de la moelle osseuse étant donné la courte demi vie de l'Oxyglobin<sup>®</sup>, soit environ 22-38 h chez le chien et de 30-40 h chez les oiseaux (Bartlett, 2007; Callan & Rentko, 2003).

L'Oxyglobin<sup>®</sup> est un traitement prometteur de l'anémie, mais est encore peu utilisé en médecine aviaire principalement pour des raisons pratiques. En effet, la solution est disponible uniquement en grande quantité (60-125 ml), elle n'est stable qu'environ 24 h suite à son ouverture (Callan & Rentko, 2003) et c'est un produit très coûteux. Cette faible stabilité est due au fait qu'elle constitue un excellent milieu de culture bactérienne et qu'elle forme rapidement de la méthémoglobine (Callan & Rentko, 2003). Chez les oiseaux, son utilisation serait principalement importante en cas d'anémie sévère ainsi que lors de perte de sang aiguë et une administration de 3-10 mL/kg IV est recommandée (Bartlett, 2007). Un bolus composé d'Oxyglobin<sup>®</sup> (5 mL/kg) en plus d'un cristalloïde (10 mL/kg) a permis de rétablir la fréquence cardiaque et la pression sanguine de canards ayant perdu près de 60 % de leur volume sanguin initial, et ce en 30-120 secondes (Lichtenberger, 2004a). L'Oxyglobin<sup>®</sup> a également été administré avec succès (bolus de 15 mL/kg sur 20 minutes par voie intraosseuse) chez une buse à queue rousse souffrant d'anémie suite à une intoxication aux rodenticides. (Murray & Tseng, 2008).

#### 2.3.4. Le fer dextran

Le fer dextran est une solution colloïde visqueuse brune foncée composée d'un complexe d'hydroxyde de fer mis en solution dans du dextran pour utilisation par voie IV ou IM (Goodman, 2006). La grande majorité des ouvrages de références en médecine aviaire recommande une administration de fer dextran intramusculaire (IM) à un dosage de 10 mg/kg comme traitement de l'anémie. Le traitement peut être administré à une seule reprise

ou répété dans 7-10 jours. Certains l'utilisent en cas d'anémie de toutes sortes afin de stimuler l'érythropoïèse (Cooper, 2002; Forbes et al, 1996; Heaney & Wissman, 1996; Jones & Pollock, 2000; Redig, 1992; Tully, 1997) d'autre uniquement lors d'hémorragie (Abou-Madi & Kollias, 1992; Ritchie & Harrison, 1994; Rupley, 1997b) ou d'anémie par déficience en fer (Abou-Madi & Kollias, 1992). Certains vont même l'utiliser de façon systématique lors d'admission d'un oiseau de proie émacié, déshydraté et hypoprotéïnémique (Stone & Redig, 1994). Malgré que certains auteurs affirment qu'une administration de fer dextran a comme effet de stimuler de manière très importante la réponse à l'anémie (Redig, 1992), il semble que ces faits soient basés uniquement sur des impressions cliniques. En effet, la littérature ne rapporte aucune étude sérieuse démontrant les bienfaits d'une administration de fer dextran sur l'érythropoïèse aviaire. Une seule étude, réalisée par Bos (1992), a tenté de prouver les mérites du fer dextran sur l'érythropoïèse, mais en vain. Lors de cette étude, les valeurs d'Ht ont permis de constater une meilleure récupération de l'anémie par perte de sang chez les pigeons du groupe témoin (administration de fluide uniquement) que chez ceux ayant reçu des fluides et du fer dextran.

Chez la grande majorité des mammifères domestiques ainsi que chez l'homme, le traitement au fer dextran est réservé uniquement dans les cas d'anémie par déficience en fer et lors d'échec du traitement par des composés de fer entéraux (malabsorption gastro-intestinale ou intolérance) (Clark, 1966; Komolafe et al, 2003; Kumpf, 2003; Mahaffey, 1986; Stone, 2000; Switzer, 1971; Thrall, 2004). L'administration de suppléments de fer en absence de déficience n'est pas recommandée chez ces espèces afin d'éviter de rendre les animaux plus vulnérables aux infections bactériennes (Mahaffey, 1986). Malgré que le fer dextran se soit montré efficace dans le traitement de l'anémie par déficience en fer chez beaucoup de mammifères, son utilisation clinique demeure restreinte à cause des effets secondaires qui lui sont associés (Komolafe et al, 2003; Weiss, 1986). Une corrélation a pu

être établie entre l'administration de fer dextran et des réactions adverses telles que la nausée, les vomissements, la douleur abdominale ou lombaire, les maux de tête, les tremblements, la myalgie, l'arthralgie, l'urticaire, la lymphadénopathie, l'effusion pleurale, l'hypotension, les réactions d'hypersensibilités et le choc anaphylactique (Kane, 2003; Kumpf, 2003; Panagiotou & Douros, 2004). Lorsqu'administré par voie intramusculaire, de la douleur et une coloration permanente de peau au site d'injection en plus de la présence de myosite, de nécrose musculaire et la formation d'abcès s'ajoutent à la liste des effets secondaires (Panagiotou & Douros, 2004). Les dommages musculaires viennent de la peroxydation des lipides suite à l'activation de radicaux hydroxyles par le fer dextran (Foulkes et al, 1991). Une étude réalisée aux États-Unis de 1976-1996 a déclaré la présence de réactions anaphylactiques chez 196 patients humains, dont 31 en sont décédés (Faich & Strobos, 1999). Ces réactions anaphylactiques ne seraient pas dose dépendantes et pourraient survenir à la suite de la première administration ou lors des doses subséquentes (Kane, 2003). Comme certains de ses effets secondaires peuvent être évités par l'administration intraveineuse du fer dextran, ce mode d'administration est également préféré dans le traitement de l'anémie chez l'humain (Kumpf, 2003; Park et al, 1998). Les sels de fer, tel que le sulfate ferreux, sont des composés de fer entéraux les plus souvent utilisés en médecine vétérinaire et humaine (Goodman, 2006; Panagiotou & Douros, 2004; Stone, 2000). Ceux-ci sont associés à beaucoup moins d'effets secondaires que le fer dextran (diarrhée, vomissement, douleur abdominale, constipation) et sont peu coûteux (Kane, 2003; Kumpf, 2003; Panagiotou & Douros, 2004; Stone, 2000). D'autres types de formulation de fer parentéral (fer sucrose et le gluconate de sodium ferrique) sont également utilisés en priorité étant donné qu'ils causent moins d'effets néfastes que le fer dextran (Goodman, 2006).

L'utilisation du fer dextran IM semble donc être réservée au traitement de l'anémie chez les espèces aviaires ainsi que chez les porcs. En effet, chez



ces derniers, l'anémie néonatale par déficience en fer est prévenue par l'administration de 100 mg de fer dextran (environ 100 mg/kg) pour les trois premiers jours de vie et une fois vers 10-14 jours d'âge (Harvey, 2000; Smith, 1997). Chez les mammifères domestiques souffrant d'anémie par déficience en fer où une injection de fer dextran est nécessaire, on recommande l'utilisation de 10 à 20 mg/kg de fer dextran par jour (administré en plusieurs doses) pour quelques semaines suivant le retour des valeurs d'Ht normales (Harvey, 2000; Mahaffey, 1986). Lorsqu'employé chez l'homme, le dosage du fer dextran est calculé en fonction du poids de l'individu et de son niveau d'Hb (Komolafe et al, 2003).

### 2.3.5. Les vitamines du complexe B

En plus de l'administration du fer dextran, une injection IM de vitamines du complexe B est fréquemment recommandée lors d'anémie chez les oiseaux et particulièrement lors de perte de sang (Macwhirter, 2000; Redig, 1992; Ritchie & Harrison, 1994; Rupley, 1997a; Rupley, 1997b). La déficience en cobalamine (B12) et en acide folique (B9) a comme conséquence une mauvaise synthèse protéique menant à une division cellulaire anormale causant, entre autres, l'anémie (Brue, 1994; Klasing, 1998; Macwhirter, 2000; Ritchie & Harrison, 1994). La vitamine B6 (pyridoxine) est associée à la régulation de la fonction de plusieurs protéines comme l'Hb (Klasing, 1998) tandis que la thiamine (B1) semble avoir un effet bénéfique sur l'érythropoïèse (Carpenter et al, 2001). L'administration des vitamines du complexe B était autrefois facilitée pour des formulations regroupant l'ensemble de ces vitamines. Le dosage recommandé était basé sur la concentration en thiamine du composé et varierait entre 10 et 30 mg/kg (Redig, 1992; Ritchie & Harrison, 1994). Comme ces formulations ne sont plus disponibles sur le marché, ce traitement de l'anémie semble moins couramment utilisé en médecine aviaire.

### 2.3.6. L'érythropoïétine (EPO)

L'EPO est un traitement efficace de l'anémie chronique chez les mammifères et est utilisée dans le but de stimuler l'érythropoïèse de la moelle osseuse (Samour, 2006). Étant donné que l'EPO des mammifères n'est pas efficace chez les oiseaux et qu'aucune EPO synthétique n'est disponible pour ces espèces, ce traitement n'est pas utilisé en médecine aviaire (Rosse & Waldmann, 1966).

## 3. Le fer et l'anémie

### 3.1. Le métabolisme du fer chez les oiseaux

Le fer est un élément essentiel à la survie pour l'ensemble des organismes vivants (Smith, 1997). Le fer joue un rôle important non seulement dans le transport de l'oxygène au tissu par l'Hb et dans la formation des molécules de réserve (hémoglobine, myoglobine), mais également comme cofacteur essentiel pour le métabolisme de l'énergie et de la thermorégulation (Ganz, 2003; NRC, 2005). Le fer sous sa forme libre dans l'organisme est cependant toxique (Cotter, 2001). En effet, le fer a la capacité de catalyser la production de radicaux libres à partir des ions oxygènes et hydrogènes et peut ainsi causer d'importants dommages aux membranes cellulaires et à l'ADN (Andrews & Smith, 2000; Andrews, 2000; Smith, 1997). En étant à la fois essentiel et toxique, le fer de l'organisme se doit d'être contrôlé avec précision par des mécanismes complexes de régulation en fonction des besoins (âge, réserves de fer, fer dans la diète, état de santé, érythropoïèse) (Sheppard & Dierenfeld, 2002). Il existe peu d'information concernant le métabolisme du fer chez les oiseaux. La majorité des mécanismes de régulation du fer décrit chez les oiseaux viennent donc d'extrapolations des mammifères.

La principale source de fer de l'organisme provient de l'alimentation et est sous forme de fer ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) (Andrews, 2000). Afin d'être pris en charge par les entérocytes, ce dernier doit être converti en fer ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ) au niveau du proventricule et du ventricule (Klasing, 1998; Tako et al, 2010). Le passage du fer dans l'estomac favorise son absorption intestinale par l'effet stabilisateur de son pH sur les complexes fer (Cotter, 2001). Comme chez les mammifères, l'absorption du fer se fait principalement au niveau du duodénum et de la partie haute du jéjunum (Smith, 1997; Tako et al, 2010). Chez la plupart des espèces, 5-10% du fer disponible dans l'alimentation est ainsi absorbé (Cotter, 2001). Le fer hème de la diète, soit le fer provenant des aliments carnés, est une source de fer plus disponible que le fer non-hème des végétaux et serait absorbé trois fois plus efficacement (Sheppard & Dierenfeld, 2002). En effet, le fer hème est rapidement pris en charge par les entérocytes sans être modifié, tandis que le fer non-hème doit quant à lui être préalablement oxydé en sa forme ferrique (Cotter, 2001; Sheppard & Dierenfeld, 2002). L'absorption du fer non hème est également affectée par la présence d'éléments de la diète dans le tube digestif (Smith, 1997). Les polyphénols, le calcium, le tannin, les métaux ainsi que les protéines du lait et du soya diminuent l'absorption du fer alors que l'acide ascorbique la favorise (NRC, 2005; Sheppard & Dierenfeld, 2002). Deux molécules sont responsables de l'absorption du fer par la membrane apicale des entérocytes chez les mammifères, la DMT1 (*Divalent metal transporter-1*) qui permet l'absorption du fer non hème et la HCP1 (*Heme carrier protein 1*) qui permet l'absorption du fer lié à l'hème (Andrews, 2000; Deicher & Horl, 2004; Ganz, 2003; NRC, 2005; Tako et al, 2010). Une fois dans les entérocytes, le fer peut être emmagasiné sur place sous forme de ferritine ou être déplacé à la surface basolatérale des entérocytes pour être transporté à l'extérieur des entérocytes par la ferroportine. Dans la circulation sanguine, le fer réoxydé en fer ferrique est acheminé vers les différents organes par la transferrine où il peut être pris en charge par les macrophages de la moelle osseuse et les hépatocytes via leur récepteur DMT1 (Klasing, 1998; Smith, 1997). La

transferrine est une glycoprotéine produite par le foie et qui est régulée de manière inversement proportionnelle à l'abondance des réserves de fer hépatique (Andrews, 2000; Smith, 1997).

Chez les mammifères, nous savons que le fer est gardé sous quatre compartiments : l'Hb (65%), en réserve dans le foie et la rate sous forme soluble, diffuse et labile (ferritine) ou insoluble et en agrégat (hémosidérine) (30%), la myoglobine (3%) et un compartiment labile où le fer est lié à la membrane cellulaire et aux protéines intracellulaires (2%) (Smith, 1997; Stone, 2000). Chez le poulet, on estime à 57 % la quantité de fer de l'Hb et à 7 % celle mise en réserve sous forme de myoglobine (Leeson & Summers, 2001). La ferritine et l'hémosidérine seraient également les formes d'entreposage du fer chez les espèces aviaires (Davis et al, 1968). La plus grande proportion du fer de l'organisme se retrouve donc dans les érythrocytes sous forme d'Hb (Sheppard & Dierenfeld, 2002). Chez les mammifères, environ 1 mg de fer est nécessaire à la production de 1 mL de GR (Cotter, 2001). La ferritine représente la forme d'entreposage du fer la plus importante chez les mammifères et probablement chez les espèces aviaires (Andrews & Smith, 2000; Davis et al, 1968; Sheppard & Dierenfeld, 2002). Cette dernière est le résultat de la liaison du fer à une protéine, l'apoferritine (Andrews & Smith, 2000; Smith, 1997). L'hémosidérine quant à elle représente les réserves de fer en excès de l'organisme et contient plus de 35 % de fer (Leeson & Summers, 2001; Sheppard & Dierenfeld, 2002). La myoglobine joue un rôle comparable à l'Hb en procurant temporairement aux muscles de l'oxygène en condition anaérobie (Andrews & Smith, 2000). Chez le pigeon, nous savons que le fer administré par voie veineuse est mis en réserve de manière graduelle dans le foie, la rate et la moelle osseuse (Ramis & Planas, 1978). Le foie semble d'ailleurs être l'organe de réserve le plus important chez cette espèce (Ramis & Planas, 1978).

Le fer est un élément très bien conservé de l'organisme autant chez les mammifères que les oiseaux. En effet, mis à part les pertes de fer gastro-

intestinales dues à la desquamation des entérocytes ou par les cellules épithéliales de la peau, il n'existe pas de mécanismes d'excrétion du fer (Andrews, 2000; Cotter, 2001; Leeson & Summers, 2001). L'homéostasie de cet élément est donc principalement contrôlée par son absorption par le système digestif (NRC, 2005). Les mécanismes gérant le niveau d'absorption du fer par les entérocytes ne sont pas encore bien compris, mais ceux-ci dépendraient principalement de la concentration du fer dans le cytoplasme des entérocytes (Andrews, 2000). Une fois le fer absorbé, la muqueuse intestinale semble devenir résistante à l'absorption de nouvelles molécules de fer (Andrews, 2000). Les réserves de fer de l'organisme ainsi que l'activité érythropoïétique influenceraient également les mécanismes d'absorption du fer (Andrews, 2000). Une relation inversement proportionnelle a été établie entre la concentration de ferritine sérique et le pourcentage de fer absorbé par l'intestin (NRC, 2005). Chez les mammifères, il est connu que plusieurs de ces mécanismes sont régulés par une petite molécule synthétisée par le foie, l'hepcidine. Ce peptide cationique riche en cystéine régule l'absorption intestinale et la relâche cellulaire du fer dans la circulation sanguine (Deicher & Horl, 2004; Ganz, 2003). En se liant à la DMT1, l'hepcidine provoque la séquestration et l'inactivation du fer des macrophages, des hépatocytes et des entérocytes en plus empêcher l'absorption intestinale du fer (Deicher & Horl, 2004; Ganz, 2003). La production de l'hepcidine est favorisée lors d'anémie ou d'hypoxie et est inhibée par de forte réserve de fer (Ganz, 2003). Une étude réalisée chez le pigeon a permis d'isoler deux gènes de l'hepcidine et suggère que cette molécule aurait le même rôle dans le mécanisme du fer que les mammifères (Fu et al, 2007). Une très faible quantité de fer est tout de même absorbée quotidiennement par le système digestif, soit environ 1-2 mg par jour chez l'homme (Andrews, 2000). Le fer des vertébrés est en fait préservé de manière très stricte par des mécanismes de récupération du fer des GR sénescents. Près de 90 % du fer servant à la fabrication de nouveaux érythrocytes vient du recyclage des vieux GR (Cotter, 2001). Le fer est récupéré par les macrophages de la rate

et du foie pour être transporté par la transferrine vers la moelle osseuse et ainsi recommencer le cycle de la fabrication de nouveaux GR (Smith, 1997).

### 3.2. L'évaluation des réserves de fer

Plusieurs méthodes d'évaluation des réserves de fer de l'organisme sont disponibles chez les mammifères. La grande majorité de celles-ci sont utilisées chez les espèces aviaires sans toutefois avoir été validées par des études (Hochleithner, 1994).

#### 3.2.1. Les paramètres sanguins

Le fer peut être mesuré dans le plasma ou le sérum héparinisé (Hochleithner, 1994). L'EDTA ne peut être utilisé comme anticoagulant pour ce type d'analyse, car celui-ci se lie au fer et altère les résultats (Hochleithner, 1994). L'hémolyse des GR donne également des résultats non diagnostiques en libérant une plus grande quantité d'Hb dans le plasma (Hochleithner, 1994). Même si certaines études suggèrent une mauvaise corrélation entre les valeurs de fer plasmatique et les réserves de fer du foie, cette mesure reste couramment utilisée en médecine aviaire (Hochleithner, 1994).

La mesure de la transferrine sérique peut également être utile dans l'évaluation des réserves de fer chez les oiseaux. Celle-ci semble bien refléter les réserves de fer chez l'homme, mais d'importantes variations entre espèces sont remarquées chez les mammifères domestiques (Hochleithner, 1994). Ce paramètre est donc moins utilisé en médecine vétérinaire (Hochleithner, 1994). La capacité de liaison de la transferrine ou TIBC (*Total Iron-Binding Capacity*) correspond à la concentration maximale en fer que peut lier les protéines du plasma soit principalement la transferrine (Hochleithner, 1994). Généralement, un tiers de la transferrine est saturé de fer (Andrews, 2000). Le pourcentage de saturation de la transferrine peut

également être calculé à partir des valeurs de fer plasmatique et du TIBC (fer plasmatique/TIBC) (Cotter, 2001).

L'évaluation de la ferritine sérique est la meilleure méthode hématologique d'évaluation des réserves de fer de l'organisme chez l'homme (Forman & Vye, 1980; Smith, 1997). Ce paramètre est également celui qui correspond le plus fidèlement aux réserves de fer non-hème retrouvées dans le foie et la rate chez le chien, le cheval, le chat et le porc (Smith, 1997). Cela ne semble cependant pas être le cas chez le rat (Hunter, 1978). Comme la méthode d'évaluation de la ferritine sérique emploie un test ELISA avec anticorps spécifiques d'espèce, ce test est limité à quelques espèces de mammifères domestiques et n'est pas disponible chez les oiseaux (Harr, 2006). Aucune réaction croisée entre l'antiferritine humaine et la ferritine sérique des oiseaux n'a pu être établie (Dorrestein, 1992). La ferritine a cependant déjà été isolée dans plusieurs organes chez le canard (Diez et al, 1987) et le poulet (Darcel Cle & Merriman, 1971; Han & Dunn, 2000). L'utilisation d'antisérum de la ferritine aviaire semble efficace pour son identification et être en bonne corrélation avec les réserves de fer de l'organisme, mais cette technique est à ce jour uniquement utilisée en recherche (Diez et al, 1987).

L'ensemble de ces paramètres sanguins sont donc des estimations indirectes des réserves de fer de l'organisme et ils peuvent être affectés par des conditions cliniques telles que l'inflammation, les infections, les maladies hépatiques et l'hémolyse (Matheson et al, 2007).

### 3.2.2. L'examen microscopique

Contrairement à la ferritine qui est soluble, l'hémosidérine est non soluble et peut être visible en microscopie sous forme de précipité dans les tissus (Andrews & Smith, 2000). L'hémosidérine apparaît comme des granules réfringentes or à noire à la coloration standard ou bleue à la coloration bleu de Prusse (Andrews & Smith, 2000). Le bleu de Prusse colore les ions de fer

en bleu suite à une réaction avec une solution de ferrocyanure (Lumeij, 1997). De cette manière, les réserves de fer des macrophages de la moelle osseuse ou du foie peuvent être évaluées. L'analyse directe de la moelle osseuse par la cytologie ou l'histologie est une méthode invasive, mais cette dernière est celle qui représente le mieux les réserves de fer de l'organisme (Leeson & Summers, 2001; Nissenson & Charytan, 2003). Des échelles d'évaluation semi-quantitative (0 à 4+) sont le plus souvent utilisées (Forman & Vye, 1980). Le comptage du nombre de macrophages contenant de l'hémosidérine par champs microscopique (DePalma, 1996) ou encore l'utilisation de méthode d'analyse de surface est également employé (Strasser et al, 1998).

### 3.3. L'anémie par déficience en fer

Étant donné son rôle essentiel dans la formation de l'Hb, la déficience en fer peut mener à l'anémie. Chez les oiseaux comme chez les mammifères l'anémie par déficience en fer est le résultat d'un manque d'apport alimentaire ou une perte de sang externe chronique (Campbell & Ellis, 2007). L'anémie par perte de sang interne (hématome, hémorragie interne, hémolyse) ne peut créer une anémie par déficience en fer, car le fer perdu est récupéré par les macrophages et réutilisé dans la formation de nouveaux GR (Stone, 2000). Chez les mammifères domestiques, qui sont généralement nourris à l'aide d'une diète équilibrée, la déficience nutritionnelle causant l'anémie est plutôt rare (Switzer, 1971). L'anémie par déficience en fer serait donc le plus souvent causée par une perte de sang gastro-intestinale (parasites, ulcères, néoplasmes), génito-urinaire (cystite, pyomètre) ou par de nombreux parasites externes (Stone, 2000; Switzer, 1971). Le sang étant la réserve de fer la plus importante de l'organisme, une perte d'Hb de manière chronique va rapidement provoquer une anémie (Worell, 1991). La phlébotomie est d'ailleurs un traitement efficace chez l'homme et les oiseaux pour traiter l'hémochromatose, une maladie provoquée par de trop grandes réserves de



fer (Dorrestein, 2000; Worell, 1991). Chez les oiseaux de proie sauvages, il est cependant probable que l'anémie par manque d'apport nutritionnel soit aussi fréquente. En effet, comme mentionné précédemment (2.1. Les types d'anémie et leur prévalence), les oiseaux de proie incapables de chasser à cause de diverses circonstances ou pathologies, peuvent développer ce type de déficience et devenir anémiques (Redig, 1992). En présence de déficience en fer, il y a activation des mécanismes d'absorption intestinale du fer alimentaire et de libération du fer en réserve (Smith, 1997). Chez le chien, l'absorption du fer par l'intestin est augmentée de cinq à 15 fois lors de déficience en fer (Cotter, 2001). De faibles valeurs de fer et de ferritine sérique à la biochimie en présence d'anémie ainsi qu'une diminution de la saturation de la transferrine et des réserves de fer de la moelle osseuse suggèrent fortement une anémie par déficience en fer (Harvey, 2000; Smith, 1997). Les valeurs de TIBC lors d'anémie par déficience en fer semblent cependant varier d'une espèce à l'autre. Cette dernière reste inchangée chez le chien et le chat et augmente chez le porc, le cheval et les ruminants. (Harvey, 2000; Weiser & O'Grady, 1983).

### 3.4. L'anémie de condition chronique

Le métabolisme du fer joue également un rôle primordial dans le développement de l'anémie de condition inflammatoire. Lors d'inflammation d'origine infectieuse ou non, les valeurs de fer plasmatique, de TIBC et de saturation de la transferrine diminuent tandis que la ferritine sérique et les réserves de fer de la moelle osseuse et du foie augmentent (Andrews, 2000; Waner & Harrus, 2000). Ce phénomène est causé par une diminution de l'absorption intestinale du fer et l'augmentation de sa séquestration dans les organes de réserves (Andrews, 2000; Smith, 1997). Ces mécanismes se seraient entre autres développés afin de protéger l'organisme des infections bactériennes (Ganz, 2003). En effet, les bactéries, tout comme la majorité des êtres vivants, ont besoin du fer pour croître et se multiplier (Ganz, 2003;

Smith, 1997). Des études réalisées chez les mammifères ont montré que les patients sont plus susceptibles aux infections lors de niveau de fer élevé et que la simple présence de l'interleukine-6, une cytokine inflammatoire, a pour effet la diminution du fer plasmatique (Andrews, 2004). L'hepcidine serait à la base de ces mécanismes. Effectivement, une forte expression des gènes de l'hepcidine est induite lors d'inflammation (Deicher & Horl, 2004; Nemeth et al, 2004). De plus, des mesures de l'hepcidine urinaire ont révélé des valeurs 100 fois plus importantes chez des patients atteints d'anémie de condition inflammatoire (Ganz, 2003). Le même phénomène a aussi été observé chez le pigeon où l'administration de lipopolysaccharide (LPS) a eu pour effet de stimuler l'expression d'un gène de l'hepcidine (Fu et al, 2007).

## Chapitre 2 – Méthodologie

---

L'ensemble des procédures décrites a été au préalable approuvé par le Comité d'éthique de l'utilisation des animaux (CÉUA) de la Faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Montréal.

### 1. Individus à l'étude

Le projet a été réalisé chez deux groupes de sujets, des crécerelles d'Amérique (*Falco sparverius*) issues de la captivité et des oiseaux de proie sauvages de diverses espèces.

#### 1.1. Crécerelles d'Amérique issues de la captivité

Quarante crécerelles d'Amérique ont été fournies par l'*Avian Science and Conservation Centre* du Collège MacDonald (Université McGill). Ces dernières sont nées en captivité et n'ont participé à aucun projet pouvant influencer nos résultats de recherche. Par souci d'uniformisation des données, les individus sélectionnés étaient tous des femelles âgées entre un et trois ans, d'un poids variant entre 100 et 130 g et sans aucun problème de santé connu. Les oiseaux ont été gardés en huit sous-groupes de cinq individus dans des volières extérieures et alimentés à l'aide de souris mortes entières et d'eau à volonté. Les manipulations ont été réalisées un sous-groupe à la fois. Le temps d'acclimatation des oiseaux avant le début des procédures a donc été variable d'un sous-groupe à l'autre (entre six et 64 jours).

#### 1.2. Oiseaux de proie sauvages

Sur une période de un an et demi, soit du 3 janvier 2009 au 20 août 2010, l'Ht a été évalué sur l'ensemble des oiseaux sauvages admis à la Clinique des

oiseaux de proie (COP) de la Faculté de médecine vétérinaire (Université de Montréal). Les oiseaux ayant un  $Ht \leq 0,30$  L/L et démontrant au moins un signe clinique de l'anémie étaient inclus dans le projet. Étant donné l'effet du fer sur la croissance des bactéries, les oiseaux atteints d'une infection bactérienne évidente (avec isolement d'un agent bactérien) ont été exclus de la recherche afin d'éviter le risque d'aggraver leur état de santé. Les individus ayant subi ou devant subir une manipulation pouvant interférer avec nos résultats (par exemple une transfusion sanguine) ont aussi été retirés du projet. Les très jeunes oiseaux n'ont pas été introduits dans l'étude étant donné leur physiologie différente des adultes et pour minimiser leur manipulation (éviter l'effet d'imprégnation à l'homme qui pourrait avoir un impact important sur le pronostic de relâche de l'oiseau). Les individus participant au projet sont donc des oiseaux de proie souffrant de divers types d'anémie ainsi que d'espèce, d'âge et de sexe différents. À cause de leur mode de vie semblable et qu'ils se nourrissent de proies, les urubus à tête rouge ont également été inclus dans l'étude même s'ils ne sont plus classés dans l'ordre des Falconiformes. Les oiseaux ont été gardés en captivité dans les volières intérieures de la COP et alimentés à l'aide de proies décongelées diverses (principalement souris et poussins) et d'eau à volonté. À la fin du projet, les oiseaux ayant une bonne condition physique ont été remis en liberté dans la nature.

Afin de déterminer la prévalence de l'anémie chez les oiseaux de proie admis à la COP depuis le début de l'enregistrement des données hématologiques (1<sup>er</sup> décembre 1986 au 18 janvier 2011), les dossiers médicaux archivés ainsi que la base de données informatisée ont été consultés.

## **2. Manipulations**

En ce qui concerne les procédures effectuées chez les crécerelles d'Amérique issues de la captivité, celles-ci ont toujours été réalisées par le

même manipulateur, c'est-à-dire par l'étudiante chargée du projet ou l'assistante de recherche en fonction du type de procédure. Cependant, celles effectuées chez les oiseaux de proie sauvages ont été faites par le vétérinaire présent à la COP au moment des manipulations.

Afin d'étudier l'effet d'une administration de fer dextran sur l'anémie par perte de sang externe aiguë chez la crécerelle d'Amérique, nous devons au préalable créer cette anémie chez ceux-ci. Pour ce faire, deux phlébotomies correspondant à 2-3 % du poids corporel des oiseaux ont été effectuées à un intervalle de 6 h (prélèvement total d'environ 40-60 % du volume sanguin de l'oiseau). La majorité des phlébotomies ont été réalisées sous anesthésie générale (isoflurane administré au masque ou avec intubation endotrachéale) par la veine jugulaire droite à l'aide d'une seringue de 3 ou 5 mL munie d'une aiguille 27G (hypodermique simple ou montée sur un papillon) toutes deux préalablement héparinisées. Si une quantité insuffisante de sang était retirée, la veine jugulaire gauche ainsi que les veines basiliques ou ulnaires ont été utilisées. Afin d'éviter la déshydratation des sujets, un volume équivalent de fluide (NaCl 0,9 % tiède stérile) à celui du sang prélevé chez l'animal a été administré par voie sous-cutanée dans les aines à la suite de chaque phlébotomie. Pour être officiellement inclus dans le projet, les oiseaux devaient avoir un  $Ht \leq 0,30$  L/L le lendemain du dernier prélèvement sanguin.

## 2.1. Administration du traitement

Les traitements ont été administrés à l'aveugle, c'est-à-dire à l'insu de l'étudiant responsable du projet, soit par l'assistante de recherche ou par le vétérinaire de la COP dans le cas des oiseaux sauvages.

### 2.1.1. Crécerelles d'Amérique issues de la captivité

Les animaux ont préalablement été subdivisés de manière aléatoire en groupe traitement et contrôle. Les 18 crécerelles du groupe traitement ont

reçu une administration IM de fer dextran (100 mg/mL, *Dominion Veterinary Laboratories Ltd.*, Winnipeg, Manitoba, Canada) à 10 mg/kg. Étant donné le faible poids des oiseaux et la concentration de la solution de fer disponible, cette dernière a été diluée de dix fois à l'aide d'eau stérile pour donner une concentration de 10 mg/mL. Pour s'assurer de la stabilité de la solution, la dilution a été réalisée quelques minutes avant l'administration du traitement. Les 17 oiseaux du groupe contrôle ont quant à eux reçu une injection de saline stérile (NaCl 0,9 %) d'un volume équivalent au fer dextran, soit entre 0,1 et 0,12 mL. Les injections ont été effectuées à l'aide d'une seringue de 1 mL munie d'une aiguille de petit calibre (25G). Le même site d'injection a été utilisé pour l'ensemble des oiseaux, soit le tiers crânial droit des muscles pectoraux. Le traitement a été administré au moment de la création de l'anémie (t0), c'est-à-dire suite à la 2<sup>e</sup> phlébotomie.

### 2.1.2. Oiseaux de proie sauvages

Une fois admis dans le projet, les oiseaux ont été répartis aléatoirement en groupe traitement et contrôle à l'aide d'une feuille de distribution aléatoire préalablement établie. Un numéro correspondant à un traitement (fer dextran ou saline) a été attribué à chacun des individus inclus dans le projet. Les oiseaux du groupe traitement ont reçu une administration de fer dextran (100 mg/mL, *Dominion Veterinary Laboratories Ltd.*, Winnipeg, Manitoba, Canada) à 10 mg/kg et ceux du groupe contrôle un volume équivalent de saline stérile (NaCl 0,9 %). Par souci d'injecter un volume de traitement équivalent pour chacun des oiseaux (importante variation de poids entre les sujets), la solution de fer a été administrée sous sa forme originale ou diluée. Ainsi les oiseaux d'un poids  $\geq 500$  g ont reçu une injection de la solution originale à 100 mg/mL tandis que les autres (poids  $< 500$  g) ont reçu la forme diluée de la solution à 10 mg/mL. Pour s'assurer de la stabilité de la solution, la dilution a été réalisée quelques minutes avant l'administration du traitement. L'ensemble des injections a été effectué dans le tiers crânial droit

des muscles pectoraux de l'oiseau à l'aide d'une seringue et d'une aiguille de petit calibre (1 mL et 25G). Douze individus ont été inclus dans le projet, six dans le groupe traitement et six dans le groupe contrôle. Le traitement a été administré au moment où l'anémie a été constatée et l'oiseau inclus dans l'étude (t0). Pour éviter d'interférer avec nos résultats, les autres traitements intramusculaires prescrits à un oiseau du projet ont été administrés dans les muscles pectoraux gauches.

## 2.2. Suivi des oiseaux anémiques

Plusieurs prises de sang ont été faites pour suivre dans le temps la récupération des oiseaux anémiques (à l'aide de l'Ht et du pourcentage de cellules érythroïdes immatures), les réserves de fer (par le fer plasmatique) et pour évaluer les dommages musculaires associés à l'injection de fer (par la CK plasmatique).

Un examen clinique des oiseaux a également été réalisé au moment des prélèvements sanguins. L'examen clinique consistait en l'évaluation subjective et objective de l'état général de l'oiseau par les signes cliniques de l'anémie, le poids, l'état de chair, l'état d'hydratation ainsi que l'état mental. Si un individu n'était pas à l'étude pour une période excédant une semaine, celui-ci était tout de même attrapé au moins une fois par semaine pour un suivi de l'état général (examen physique sommaire, poids, état de chair). Une grille d'évaluation des points limites par score a été établie afin de fixer le moment d'arrêt des procédures advenant une dégradation importante de l'état général de l'oiseau (Annexe I).

### 2.2.1. Crécerelles d'Amérique issues de la captivité

Suite à la première (t-6h) et la deuxième (t0) phlébotomie ainsi qu'à l'administration du traitement (t0), un prélèvement sanguin ainsi qu'un examen clinique des oiseaux ont été faits à 24 h (t1j), 48 h (t2j), 72 h (t3j),

7 j (t7j) et 14 j (t14j) après le traitement. La quantité de sang prélevée était variable d'un temps à l'autre, soit environ 0,3 mL à t1j, t2j et t7j et 1 mL à t3j et t14j. Les veines basiliques ou ulnaires (seringue 1 mL, aiguille 27 ou 29G) ont été utilisées pour les petits prélèvements sanguins tandis que les veines jugulaires (seringue 3 mL, aiguille 27G) ont servi de site de prélèvement pour les plus grands volumes de sang chez les oiseaux anesthésiés à l'isoflurane au masque. Pour s'assurer de l'uniformité des résultats, l'ensemble des prises de sang a été fait à l'aide de seringue et d'aiguille pré-héparinisées. La variation du volume de prélèvement nous a permis de recueillir une plus grande quantité d'information sans nuire à la régénérescence érythrocytaire (un prélèvement sanguin de 1 mL seulement 24 h après la création de l'anémie aurait certainement pu avoir comme effet d'accentuer l'anémie et ainsi interférer dans le processus de rétablissement de l'animal). Les analyses effectuées pour chacun des prélèvements sanguins sont :

- Prélèvement d'environ 0,3 mL (t1j, t2j, t7j) :
  - Ht et ST
  - Pourcentage des polychromatophiles et des réticulocytes
- Prélèvement d'environ 1 mL (t3j, t14j) ainsi qu'au moment des phlébotomies (t-6h, t0) :
  - Ht et ST
  - Pourcentage des polychromatophiles et des réticulocytes
  - Fer plasmatique
  - CK plasmatique

Les valeurs d'Ht ont été déterminées à l'aide de la technique des capillaires à microhématocrite. Une petite quantité de sang a été utilisée pour remplir deux capillaires héparinisés qui ont ensuite été centrifugés à 7200 tours par minutes pour 5 minutes (*Clay Adams MP Readacrit™ Centrifuge, Becton Dickinson and Compagny, Canada*). La moyenne des deux lectures a été notée. Les ST ont par la suite été obtenus à partir du plasma des capillaires à microhématocrite et d'un réfractomètre (*Atago SPR-N, Atago CO., Ltd, Japon*).



Pour évaluer le pourcentage de polychromatophiles et de réticulocytes, quatre frottis sanguins, dont deux colorés à l'aide d'un colorant commercial standard (*Dip Quick J-322, Jorvet™, Jorgensen Laboratories, Inc.*, États-Unis) et deux colorés au nouveau bleu de méthylène (NBM, *Basic Blue, Sigma Chemical Company*, États-Unis), ont été réalisés à l'aide de la technique standard à deux lames et analysés au microscope. Des protocoles de coloration ont été mis au point afin de s'assurer de leur uniformité (Annexe II). Un minimum de 1000 globules rouges a été compté manuellement par champs microscopiques de 1000X (objectif 100X) afin de déterminer la proportion de cellules érythroïdes immatures (polychromatophiles ou réticulocytes en anneau) et d'en faire un pourcentage. Les deux méthodes d'évaluation ont été faites en parallèle pour les comparer. Le pourcentage de rubricytes et de rubriblastes a également été déterminé à l'aide des frottis sanguins colorés au *Dip Quick*. Afin de simplifier l'évaluation de cellules érythroïdes très immatures, l'ensemble des sous-groupes de rubricytes a été regroupé sous le terme général rubricyte. Toutes les lames microscopiques ont été lues et analysées par l'étudiant responsable du projet.

Afin d'obtenir le plasma nécessaire aux analyses biochimiques, environ 1 mL de sang provenant d'un tube héparinisé a été centrifugé. Le plasma ainsi obtenu a été congelé à -80 °C. L'analyse du fer (méthode en point final minutée) et de la CK (méthode cinétique enzymatique) plasmatiques a été faite par les techniciens du laboratoire de pathologie clinique du Service de diagnostic de la Faculté de médecine vétérinaire (Systèmes *Synchron®*, *Beckman Coulter Inc.*, Canada) chez 16 individus (huit dans chacun des groupes).

### 2.2.2. Oiseaux de proie sauvages

Après l'admission d'un oiseau dans le projet et l'administration du traitement (t0), un prélèvement sanguin ainsi qu'un examen clinique ont été

faits à 48 h (t2j), 7 j (t7j), 14 j (t14j) et 28 j (t28j). Ces intervalles ont été choisis afin de recueillir le maximum d'informations tout en n'influençant pas le processus de réhabilitation des oiseaux (les manipulations effectuées trop fréquemment pourraient engendrer un niveau de stress suffisant pour défavoriser la bonne évolution clinique de l'animal). La quantité de sang prélevée était variable en fonction du poids de l'animal, mais stable dans le temps pour un même individu. Afin d'éviter d'interférer avec la bonne correction de l'anémie chez les petits oiseaux (poids < 500 g) un volume d'environ 0,4 mL a été prélevé pour chacune des prises de données. Pour les plus grosses espèces (poids ≥ 500 g) un volume de 1 mL a été retiré nous permettant ainsi une analyse sanguine plus exhaustive. Le mode de prélèvement a pu différer d'un animal à l'autre étant donné la variabilité des manipulateurs. Les ponctions au niveau des veines ulnaires ou basiliques à l'aide de seringues et d'aiguilles héparinisées de petits calibres (1 ou 3 mL et 25 ou 27G) chez des animaux non anesthésiés ont cependant été privilégiées. Les analyses effectuées sont les suivantes :

- Prélèvement d'environ 0,4 mL (oiseaux ayant un poids < 500 g) :
  - Ht et ST
  - Pourcentage de polychromatophiles et de réticulocytes
- Prélèvement d'environ 1 mL (oiseaux ayant un poids ≥ 500 g) :
  - Ht et ST
  - Pourcentage de polychromatophiles et de réticulocytes
  - Fer plasmatique

Pour l'ensemble des analyses, les mêmes méthodes que celles employées chez les crécerelles d'Amérique issues de la captivité ont été utilisées (voir section précédente 2.2.1.). Le fer plasmatique a été mesuré uniquement chez les oiseaux ayant un poids ≥ 500 g et ayant terminé le projet, soit six individus. Principalement pour des raisons budgétaires, la CK plasmatique n'a pas été évaluée chez les oiseaux de proie sauvages.

## 2.3. Analyses post-mortem

### 2.3.1. Crécerelles d'Amérique issues de la captivité

À la fin du projet (t14j), les crécerelles ont été euthanasiées de manière humanitaire à l'aide d'une injection intraveineuse de T-61 (*Intervet Canada Ltd.*, Canada) à 1 mg/kg sous anesthésie générale à l'isoflurane. Une nécropsie macroscopique a par la suite été réalisée par l'étudiante responsable du projet. En cas de mortalité pendant les procédures ou d'anomalie observée lors de la nécropsie macroscopique, la carcasse était acheminée au Service de diagnostic en pathologie de la faune de la Faculté de médecine vétérinaire pour analyses approfondies (Centre québécois sur la santé des animaux sauvages, CQSAS). Pour l'ensemble des individus, les muscles pectoraux ainsi que le tibiotarse et l'ulna gauche ont été conservés et fixés au formol 10 %. Ces tissus ont permis l'analyse histologique des muscles pectoraux et de la moelle osseuse chez 16 crécerelles, soit huit dans chacun des groupes. À titre de comparaison, la moelle osseuse du tibiotarse et de l'ulna de quatre crécerelles d'Amérique normales, c'est-à-dire des individus où aucune anémie n'a été provoquée et n'ayant pas participé au projet, a été prélevée et soumise au même traitement. Ces oiseaux proviennent également de la captivité et ont été récupérés de la même colonie que les oiseaux du projet (*Avian Science and Conservation Centre* du Collège MacDonald, Université de McGill). Comme pour les individus à l'étude, ces oiseaux n'ont subi aucune manipulation pouvant influencer nos résultats de recherche et sont tous des femelles âgées entre un et trois ans sans aucun problème de santé connu.

La zone des muscles pectoraux correspondant au site d'injection (tiers crânial droit) a été soigneusement sélectionnée, préparée et colorée (HPS) pour analyse histologique. Un pathologiste du Service de diagnostic en pathologie de la faune de la Faculté de médecine vétérinaire (Centre québécois sur la

santé des animaux sauvages, CQSAS) a procédé à l'examen microscopique des coupes histologiques afin de détecter les signes d'inflammation et de nécrose musculaire.

Quant à la moelle osseuse, elle a été prélevée du tibiotarse et de l'ulna en disséquant minutieusement les os à l'aide de ciseaux et de pinces et a été préparée pour analyse histologique. Deux colorations ont été utilisées, une coloration standard (HPS) afin de permettre l'évaluation de la densité cellulaire de la moelle osseuse et une coloration au bleu de Prusse pour mettre en évidence les réserves de fer de la moelle osseuse. Pour chacun des individus, dix champs microscopiques de la moelle osseuse ont été photographiés. Un agrandissement de 400X (objectif 40X) a été utilisé afin d'évaluer la densité cellulaire de la moelle osseuse et un agrandissement de 600X (objectif 60X) pour évaluer les réserves de fer. Un logiciel de traitement et d'analyse d'image, *Image J* (*National Center for Biotechnology Information*), a par la suite été utilisé pour améliorer le contraste de l'image et déterminer la fraction de l'aire correspondant à la zone d'intérêt, c'est-à-dire la fraction occupée par des cellules (dans le cas de la détermination de la densité cellulaire) ou celle occupée par du fer (lors de l'évaluation des réserves de fer). Ce logiciel, initialement développé pour des applications biomédicales, est disponible gratuitement sur le site internet du *National Center for Biotechnology Information* (<http://rsbweb.nih.gov/ij/>). La moyenne des dix fractions de l'aire calculée pour chacun des individus a été notée. La procédure détaillée du traitement et de l'analyse d'image à l'aide de ce logiciel est disponible à l'Annexe III. L'évaluation des moelles osseuses a été effectuée par l'étudiant responsable du projet.

### 2.3.2. Oiseaux de proie sauvages

Les oiseaux euthanasiés ou morts pendant le projet ont été soumis au Service de diagnostic en pathologie de la faune de la Faculté de médecine

vétérinaire (Centre québécois sur la santé des animaux sauvages, CQSAS) pour nécropsie. Une note spéciale devait être indiquée sur la demande de nécropsie afin que les muscles pectoraux au site d'injection du traitement soient analysés.

### **3. Analyses statistiques**

Pour l'ensemble des analyses statistiques utilisées pour interpréter les valeurs, un seuil alpha de 5 % ( $p < 0,05$ ) a été considéré significatif.

Un modèle linéaire à mesures répétées (ANOVA) a permis d'évaluer la différence des moyennes des valeurs d'Ht, de la CK plasmatique, du fer plasmatique, du pourcentage des polychromatophiles et des réticulocytes ainsi que la densité cellulaire et les réserves de fer de la moelle osseuse en fonction du temps entre les individus du groupe traitement (fer dextran) et contrôle (saline). Selon le cas, la correction séquentielle de Bonferroni a été utilisée pour tenir compte du grand nombre de comparaisons.

Une analyse de Bland-Altman a été faite pour comparer les deux méthodes d'évaluation des cellules érythroïdes immatures, soit le pourcentage des polychromatophiles et des réticulocytes. Cette méthode consiste à mettre en lien la différence entre deux mesures (réticulocytes – polychromatophiles) en fonction de leur moyenne afin de déterminer la présence de biais systématiques entre les mesures.

## 4. Résumé des manipulations

**Tableau II :** Manipulations faites chez les crécerelles d'Amérique issues de la captivité

Temps	Prélèvement	Procédures
-6 h	2-3 % du poids corporel	Phlébotomie 1 Évaluation des signes cliniques Ht/St % polychromatophiles/réticulocytes Fer/CK plasmatique
0	2-3 % du poids corporel	Phlébotomie 2 Évaluation des signes cliniques Ht/St % polychromatophiles/réticulocytes Fer/CK plasmatique <b>Administration du traitement</b>
1 j	≈ 0,3 mL	Évaluation des signes cliniques Ht/St % polychromatophiles/réticulocytes
2 j	≈ 0,3 mL	Évaluation des signes cliniques Ht/St % polychromatophiles/réticulocytes
3 j	≈ 1 mL	Évaluation des signes cliniques Ht/St % polychromatophiles/réticulocytes Fer/CK plasmatique
7 j	≈ 0,3 mL	Évaluation des signes cliniques Ht/St % polychromatophiles/réticulocytes
14 j	≈ 1 mL	Évaluation des signes cliniques Ht/St % polychromatophiles/réticulocytes Fer/CK plasmatique Euthanasie Nécropsie Histologie des muscles pectoraux et de la moelle osseuse

**Tableau III** : Manipulations faites chez les oiseaux de proie sauvages

Temps	Prélèvement	Procédures
0	≈ 0,4 mL (si poids < 500 g) ou ≈ 1 mL (si poids ≥ 500 g)	Ht/St % polychromatophiles/réticulocytes Fer plasmatique (si poids ≥ 500 g) <b>Administration du traitement</b>
2 j	≈ 0,4 mL (si poids < 500 g) ou ≈ 1 mL (si poids ≥ 500 g)	Ht/St % polychromatophiles/réticulocytes Fer plasmatique (si poids ≥ 500 g)
7 j	≈ 0,4 mL (si poids < 500 g) ou ≈ 1 mL (si poids ≥ 500 g)	Ht/St % polychromatophiles/réticulocytes Fer plasmatique (si poids ≥ 500 g)
14 j	≈ 0,4 mL (si poids < 500 g) ou ≈ 1 mL (si poids ≥ 500 g)	Ht/St % polychromatophiles/réticulocytes Fer plasmatique (si poids ≥ 500 g)
28 j	≈ 0,4 mL (si poids < 500 g) ou ≈ 1 mL (si poids ≥ 500 g)	Ht/St % polychromatophiles/réticulocytes Fer plasmatique (si poids ≥ 500 g) Relâche ou nécropsie





## Chapitre 3 – Résultats

---

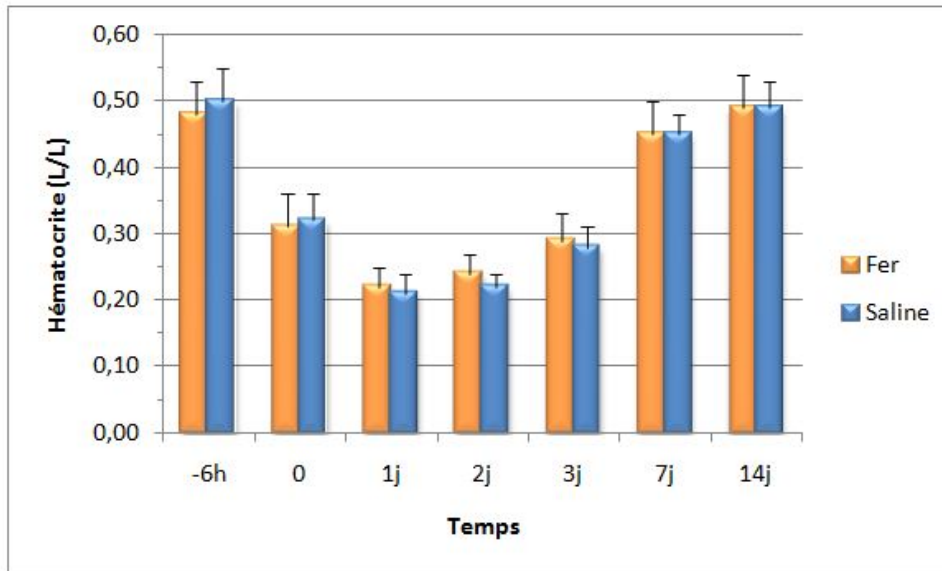
### 1. Crécernelles d'Amérique issues de la captivité

#### 1.1. Récupération des oiseaux anémiques

L'effet d'une administration de fer dextran à 10 mg/kg IM sur la récupération de crécerelles d'Amérique souffrant d'anémie par perte de sang aiguë a été évalué dans le temps par les valeurs d'Ht, le pourcentage de cellules érythroïdes immatures en circulation et les signes cliniques de l'anémie.

##### 1.1.1. Évolution de l'hématocrite

L'Ht de base, c'est-à-dire avant le début de projet (t-6h), de l'ensemble des individus varie entre 0,39 et 0,59 L/L. Suite aux deux phlébotomies (t1j), en moyenne 54,7 % du volume sanguin des oiseaux a été prélevé créant ainsi une baisse moyenne de l'Ht de 0,27 L/L par rapport aux valeurs initiales (Figure 5). Aucune différence significative ( $p > 0,20$ ) n'est notable entre les moyennes du groupe traitement et contrôle, et ce, pour chacun des temps. Une réponse homogène a d'ailleurs été observée pour l'ensemble des individus des deux groupes. Pour le groupe traitement et contrôle on note une baisse significative ( $p < 0,0001$ ) des moyennes d'Ht aux temps 1j, 2j, 3j et 7j par rapport à t-6h. Ces valeurs sont par la suite significativement revenues aux valeurs de base pour les deux groupes à t14j (moyenne non significativement différente à t-6h et t14j;  $p > 0,45$ ). Cependant, la majorité des individus (88,6 %) des deux groupes n'étaient plus anémiques ( $Ht \geq 0,35$  L/L) à t7j.

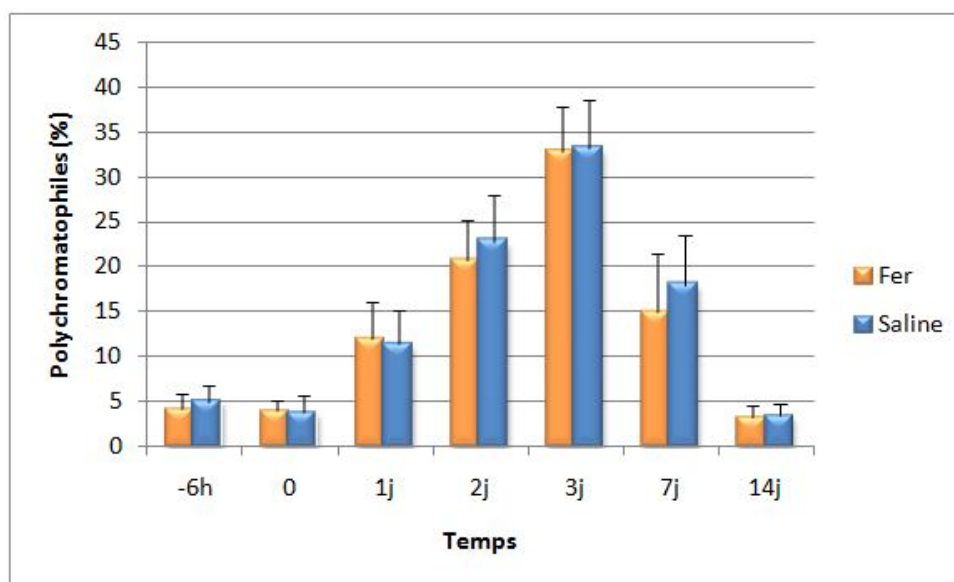


**Figure 5 :** Graphique représentant la moyenne des valeurs d'hématocrite (L/L) des individus du groupe traitement (fer, n=18) et contrôle (saline, n=17) en fonction du temps

### 1.1.2. Évolution des cellules érythroïdes immatures

#### 1.1.2.1. Polychromatophiles

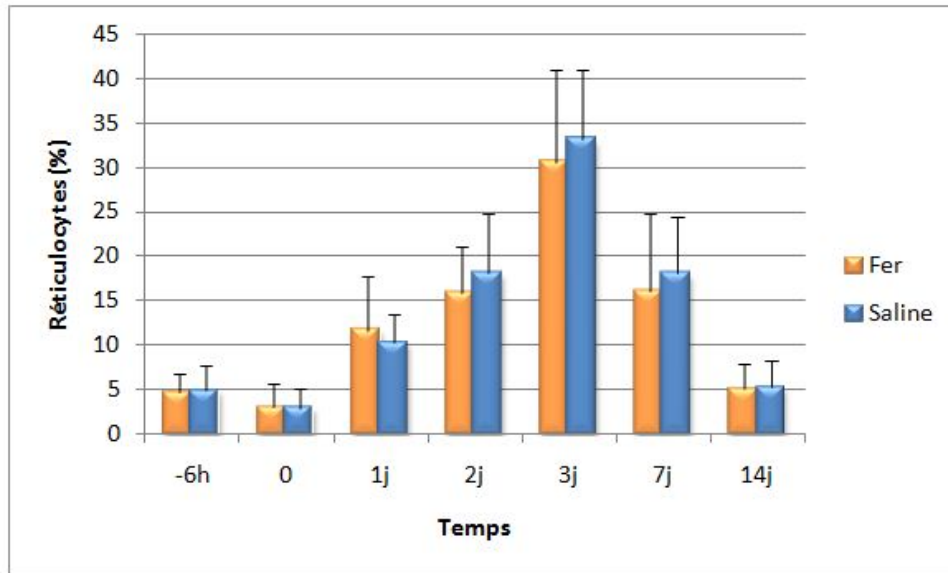
L'ensemble des individus des deux groupes à l'étude a présenté une anémie régénératrice (polychromatophiles > 10 %) de t1j à t7j (Figure 6). Pour chacun des temps, aucune différence significative ( $p > 0,02$ ; non significatif après correction séquentielle de Bonferroni) existe entre la moyenne du groupe traitement et contrôle. Une variation entre les mesures (écart-type) est particulièrement remarquable à t1j, t2j, t3j et t7j. Une augmentation significative ( $p < 0,003$ ) du pourcentage de polychromatophiles est notée aux temps 1j, 2j, 3j et 7j pour tous les individus, tandis que les moyennes des pourcentages sont comparables à t-6h, t0 et t14j (moyenne non significativement plus élevée à t-6h qu'à t0;  $p > 0,32$  et t14j;  $p > 0,24$ ).



**Figure 6** : Graphique représentant la moyenne du pourcentage de polychromatophiles des individus du groupe traitement (fer, n=18) et contrôle (saline, n=17) en fonction du temps

#### 1.1.2.2. Réticulocytes

Les individus du groupe traitement et contrôle ont démontré une anémie régénératrice (réticulocytes > 10 %) aux temps 1j, 2j, 3j et 7j (Figure 7). Aucune différence significative ( $p > 0,16$ ) n'est observée entre les moyennes du groupe traitement et contrôle à chacun des temps. Comme pour le pourcentage des polychromatophiles, une variation entre les mesures (écart-type) est particulièrement remarquable à t1j, t2j, t3j et t7j. Une augmentation significative ( $p < 0,004$ ) du pourcentage de réticulocytes est notée aux temps 1j, 2j, 3j et 7j pour les deux groupes. La légère diminution du nombre de réticulocytes observée graphiquement à t0 pour l'ensemble des oiseaux n'est pas significative. En effet, les moyennes ne sont pas moins élevées à t0 ( $p > 0,27$ ) et t14j ( $p > 0,85$ ) par rapport à t-6h.



**Figure 7 :** Graphique représentant la moyenne du pourcentage de réticulocytes des individus du groupe traitement (fer, n=18) et contrôle (saline, n=17) en fonction du temps

### 1.1.2.3. Rubricytes et rubriblastes

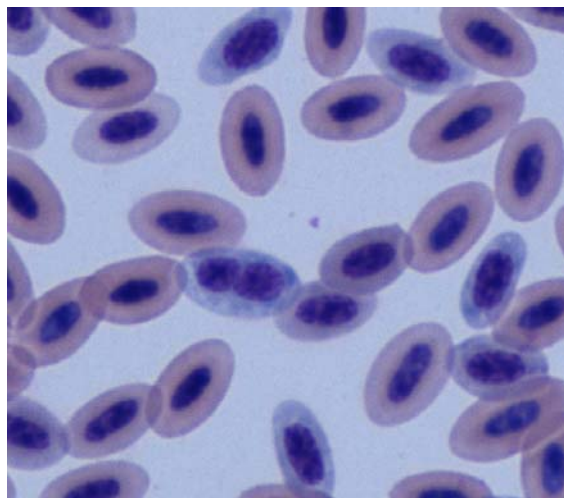
Un faible nombre de rubricytes et de rubriblastes ont été observés chez les oiseaux du groupe traitement et contrôle (Tableau IV). La grande majorité de celles-ci étaient présentes aux temps 2j, 3j, et 7j.

**Tableau IV :** Pourcentage moyen du nombre de rubricytes et de rubriblastes des individus du groupe traitement (fer, n=18) et contrôle (saline, n=17) en fonction du temps

Temps	Rubricytes (%)		Rubriblastes (%)	
	Fer	Saline	Fer	Saline
-6h	0	0	0	0
0	0	0,20	0	0
1j	0,62	0,18	0	0
2j	5,44	4,12	0,10	0,35
3j	6,24	7,32	0	0,10
7j	1,05	2,16	0,10	0
14j	0	0,10	0	0

#### 1.1.2.4. Autres caractéristiques des globules rouges

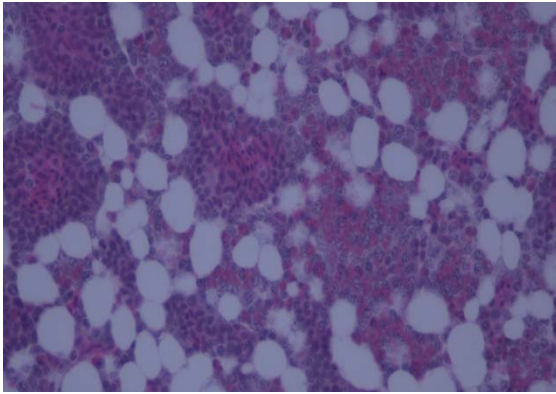
Des GR binucléés ou présentant des figures mitotiques ont été observés chez certains des individus du groupe traitement et contrôle entre t1j et t14j (Figure 8). La majorité de ces cellules ont cependant été observées à t7j et t14j.



**Figure 8 :** Photographie microscopique 600X (objectif 60X) d'un frottis sanguin (coloration *Dip Quick*) illustrant la présence d'un polychromatophile binucléé chez une crécerelle d'Amérique

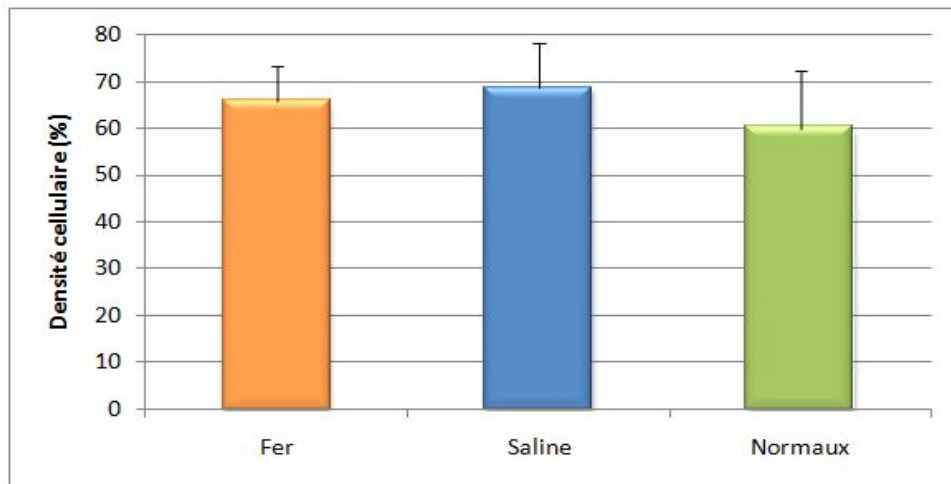
#### 1.1.3. Densité cellulaire de la moelle osseuse

Aucune différence subjective n'a été observée en ce qui concerne la densité cellulaire de la moelle osseuse des individus du groupe traitement, contrôle et chez les individus normaux (non anémique et n'ayant pas reçu de traitement) suite à la lecture des lames histologiques (Figure 9).



**Figure 9 :** Photographie microscopique 400X (objectif 40X) d'une préparation histologique (coloration HPS) de moelle osseuse (t14j) chez une crécerelle d'Amérique

On observe graphiquement (Figure 10) une légère diminution de la densité cellulaire des individus normaux par rapport aux oiseaux qui ont été anémiques. Cette remarque n'est cependant pas significative statistiquement, car aucune différence n'existe entre les moyennes des trois groupes ( $p = 0,48$ ). On note également une variabilité considérable entre les mesures des différents spécimens (écart-type) pour chacun des groupes.



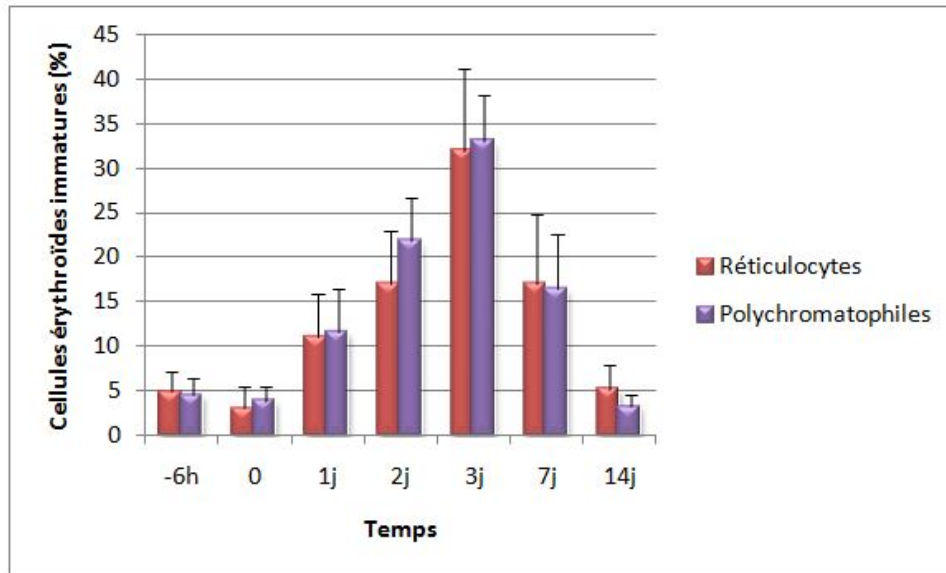
**Figure 10 :** Graphique représentant la densité cellulaire de la moelle osseuse (%) chez les individus du groupe traitement (fer, n=8) et contrôle (saline, n=8) à t14j ainsi que chez les individus non anémiques (normaux, n=4)

#### 1.1.4. Évolution des signes cliniques

Parmi les 40 individus ayant participé au projet, 32 (80 %) ont conservé un très bon état général et sont restés alertes tout au long des procédures. Ceux-ci n'ont présenté que de très légers signes de faiblesse (récupération un peu plus longue suite au vol) entre t-6h et t1j. Les huit autres individus (quatre dans chacun des groupes), ont montrés des signes plus importants de faiblesse (plumes ébouriffées, yeux mi-clos, réaction moins importante à l'environnement, plus facile à attrapé, récupération difficile suite au vol, ne se perche pas) ainsi qu'un niveau d'activité plus faible (se déplace peu, reste perché au même endroit) suite à la première et/ou la deuxième phlébotomie. De ces oiseaux, trois sont morts (voir 1.5. Oiseaux retirés du projet et mortalité). Les individus ont tous gardé un bon appétit, un poids (100-120 g) et un état de chair adéquats tout au long des manipulations. La majorité des oiseaux des deux groupes ont présenté des muqueuses pâles à t1j, t2j, et t3j. Aucune différence subjective n'a été notée entre les crécerelles du groupe traitement et contrôle en ce qui concerne les signes cliniques de l'anémie.

#### 1.2. Réticulocytes versus polychromatophiles

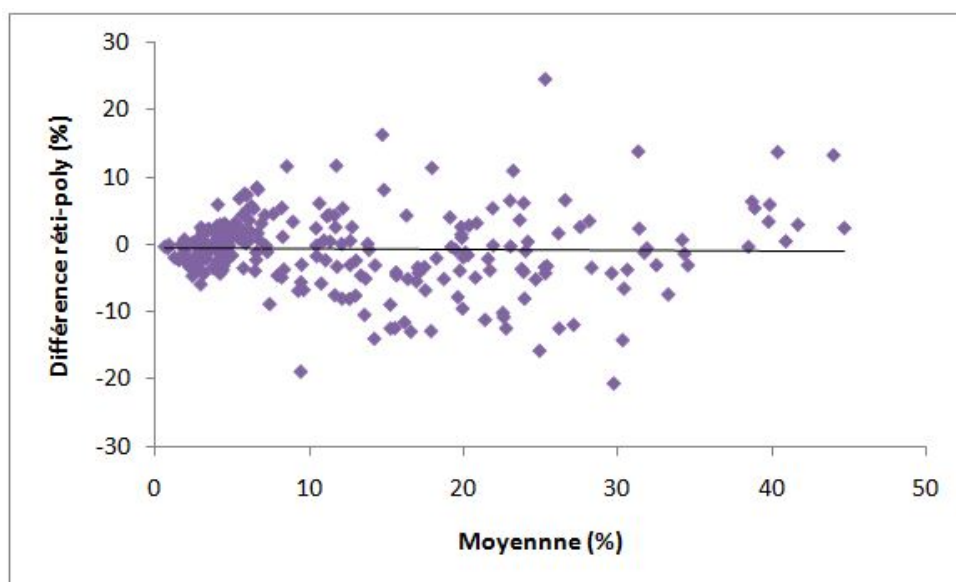
De faibles différences entre le pourcentage de réticulocytes et de polychromatophiles ont été remarquées pour l'ensemble des individus à l'étude, et ce, pour chacun des temps (Figure 11). Les plus grandes différences (réticulocytes – polychromatophiles) sont d'ailleurs constatées à t2j (-4,7 %), t3j (-1,1 %) et t14j (+1,9 %).



**Figure 11** : Graphique représentant la moyenne du pourcentage de réticulocytes et de polychromatophiles pour l'ensemble des individus des deux groupes (n=35) en fonction du temps

D'après une analyse de Bland-Altman (Figure 12), aucun biais systématique n'existe entre les moyennes du pourcentage des réticulocytes et des polychromatophiles (pente non différente de 0;  $p = 0,74$ , ordonné à l'origine non différente de 0;  $p = 0,39$ ). Par contre, en tenant compte de la différence moyenne (réticulocytes – polychromatophiles) de  $-0,66\%$  et en assumant une distribution normale des données, 95 % des différences se retrouvent dans un intervalle assez grand de  $-11,9$  à  $+10,6\%$ . Cet écart dans le pourcentage du nombre de réticulocytes et de polychromatophiles semble également plus grand lorsque les mesures sont plus grandes.





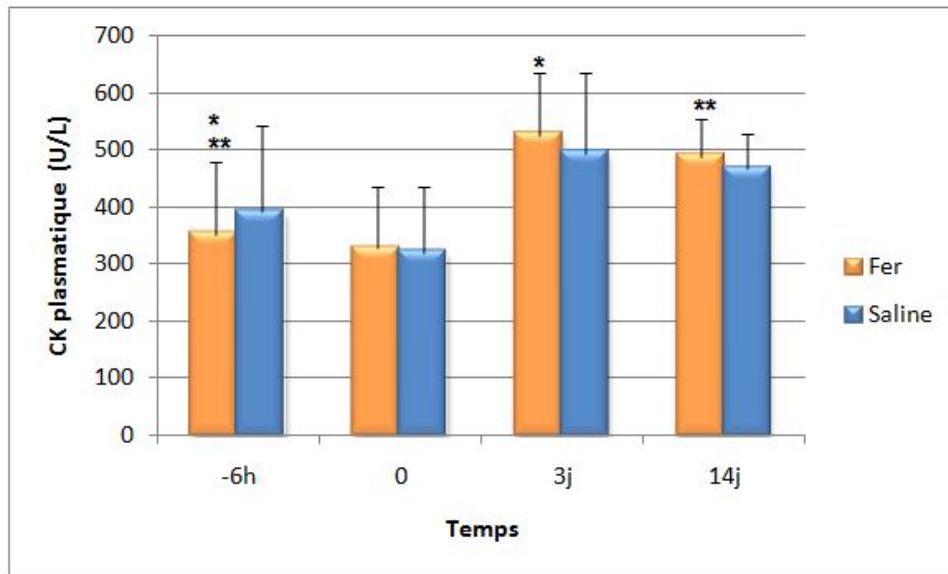
**Figure 12** : Nuage de points illustrant la droite de régression linéaire de la différence du pourcentage des réticulocytes et des polychromatophiles (réti-poly) des individus des 2 groupes (n=33) en fonction de leur moyenne (%)

### 1.3. Effets secondaires

#### 1.3.1. Créatine kinase plasmatique

L'ensemble des valeurs de la CK plasmatique mesurées sont peu élevées (Figure 13). En effet, la valeur la plus importante enregistrée est de 769 U/L chez un oiseau du groupe contrôle. Les moyennes des valeurs de la CK plasmatique des individus du groupe traitement et contrôle ne diffèrent pas de manière significative ( $p > 0,50$ ). Une importante variation entre les mesures (écart-type) est cependant observable. Les valeurs de la CK plasmatique aux temps 3j ( $p = 0,0002$ ) et 14j ( $p = 0,002$ ) sont significativement plus élevées que les valeurs de bases (t-6h) chez les individus du groupe traitement, mais non chez ceux du groupe contrôle ( $p > 0,01$ ; non significatif après la correction séquentielle de Bonferroni). La diminution des valeurs constatée graphiquement à t0 par rapport à t-6h, n'est également pas significative pour les deux groupes ( $p = 0,59$  groupe

traitement,  $p > 0,01$  groupe contrôle; non significatif après la correction séquentielle de Bonferroni).



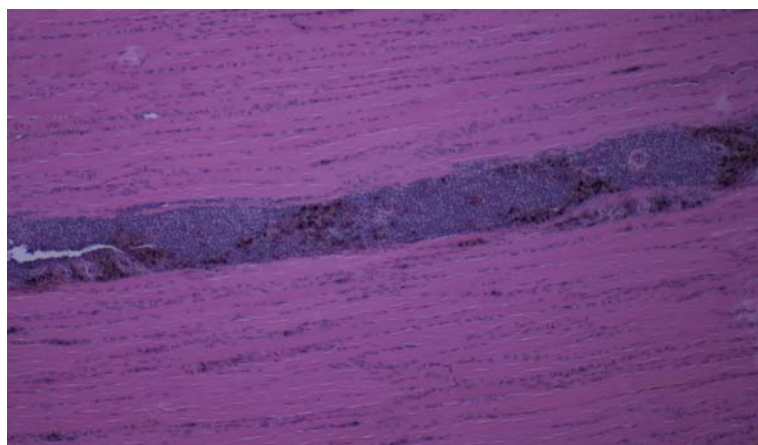
**Figure 13** : Graphique représentant la moyenne des valeurs de CK plasmatique (U/L) des individus du groupe traitement (fer, n=8) et contrôle (saline, n=8) en fonction du temps (différences significatives \* $p = 0,0002$ , \*\* $p = 0,002$ )

### 1.3.2. Histologie des muscles pectoraux

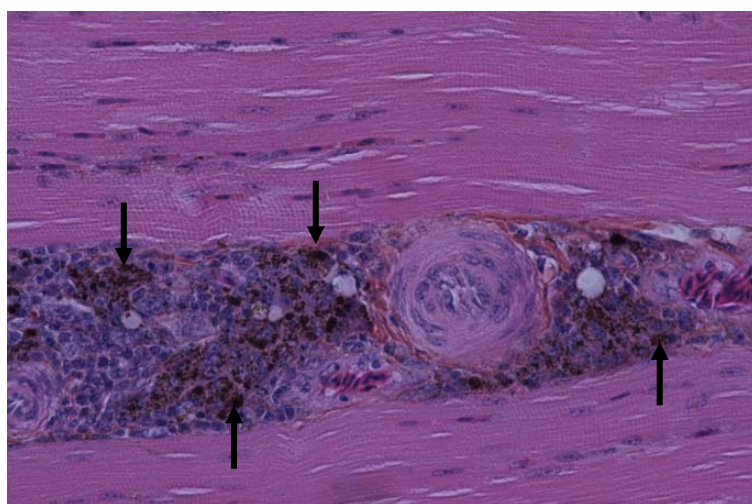
Une inflammation tissulaire légère à modérée localisée dans les tissus interstitiels et périvasculaires a été relevée au site d'injection IM chez six des huit (75 %) individus ayant reçu du fer 14 jours après l'administration du traitement (Figure 14).

Cette réaction inflammatoire est caractérisée par une infiltration de cellules inflammatoires majoritairement composée de macrophages et chez trois (50 %) de ces individus, de lymphocytes. La majorité de ces macrophages contiennent une quantité importante de fer phagocyté (Figure 15). Aucune inflammation tissulaire n'a été observée chez l'ensemble des oiseaux du groupe témoin (n=8) (Figure 16). Aucune perte d'intégrité des fibres

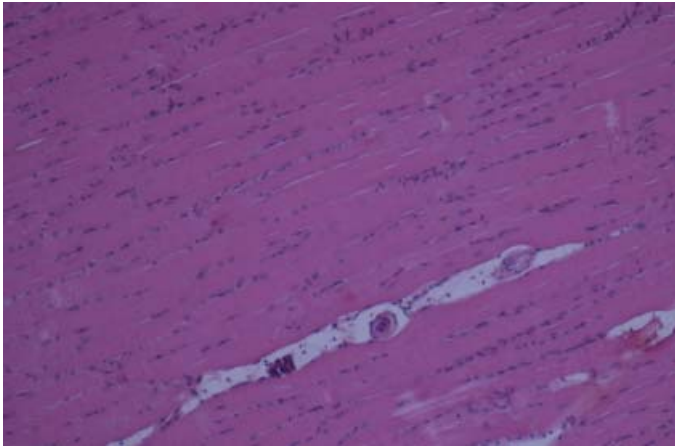
musculaires ou signes de nécroses cellulaires n'a cependant été observée chez l'ensemble des individus du groupe traitement et contrôle (n=16).



**Figure 14** : Photographie microscopique 100X (objectif 10X) d'une préparation histologique (coloration HPS) des muscles pectoraux au site d'injection du fer dextran montrant une infiltration modérée de macrophages et de lymphocytes localisée dans les tissus interstitiels et périvasculaires (t14j) chez une crécerelle d'Amérique



**Figure 15** : Photographie microscopique 400X (objectif 40X) d'une préparation histologique (coloration HPS) des muscles pectoraux au site d'injection du fer dextran montrant l'importante phagocytose du fer (pigments or, flèches) par les macrophages (t14j) chez une crécerelle d'Amérique

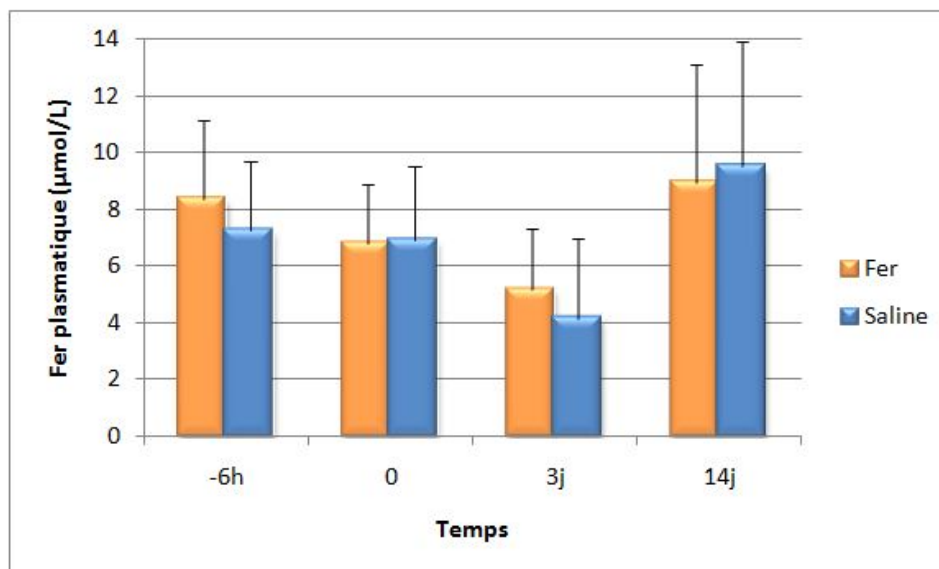


**Figure 16** : Photographie microscopique 400X (objectif 40X) d'une préparation histologique (coloration HPS) des muscles pectoraux au site d'injection de la saline ne présentant aucune infiltration de cellules inflammatoires (t14j) chez une crécerelle d'Amérique

#### 1.4. Réserves de fer

##### 1.4.1. Fer plasmatique

Les moyennes des valeurs de fer plasmatique des oiseaux du groupe traitement et contrôle ne diffèrent pas de manière significative ( $p > 0,47$ ) (Figure 17). Une importante variabilité dans les mesures des différents individus (écart-type) est également notée (Figure 17 et Tableau V). La diminution des valeurs observée graphiquement à t3j pour les deux groupes n'est pas significative. Les moyennes au temps -6h ne diffère pas significativement de la moyenne à chacun des autres temps pour le groupe traitement ( $p > 0,01$ ; non significatif après la correction séquentielle de Bonferroni) et contrôle ( $p > 0,02$ ; non significatif après la correction séquentielle de Bonferroni).



**Figure 17** : Graphique représentant la moyenne des valeurs de fer plasmatique ( $\mu\text{mol/L}$ ) des individus du groupe traitement (fer,  $n=8$ ) et contrôle (saline,  $n=8$ ) en fonction du temps

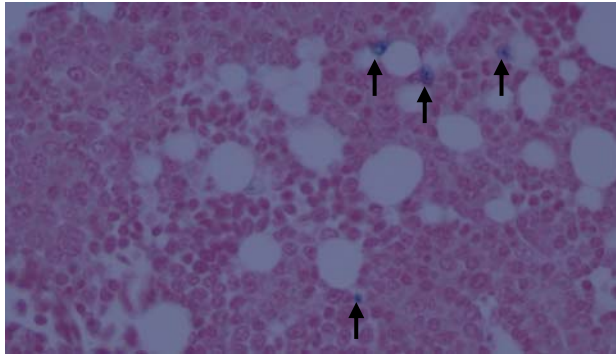
**Tableau V** : Variation des valeurs de fer plasmatique ( $\mu\text{mol/L}$ ) des individus du groupe traitement (fer,  $n=8$ ) et contrôle (saline,  $n=8$ ) en fonction du temps (Min=minimum, Max=maximum)

Temps	Fer				Saline			
	Moyenne	Écart type	Min	Max	Moyenne	Écart type	Min	Max
-6h	8,4	2,8	5,2	13,7	7,2	2,5	3,3	10,7
0	6,8	2,1	3,1	9,8	6,9	2,6	3,2	12,2
3j	5,2	2,1	2,8	9,4	4,2	2,8	2,0	10,9
14j	9,0	4,2	3,1	16,2	9,5	4,4	3,1	16,7

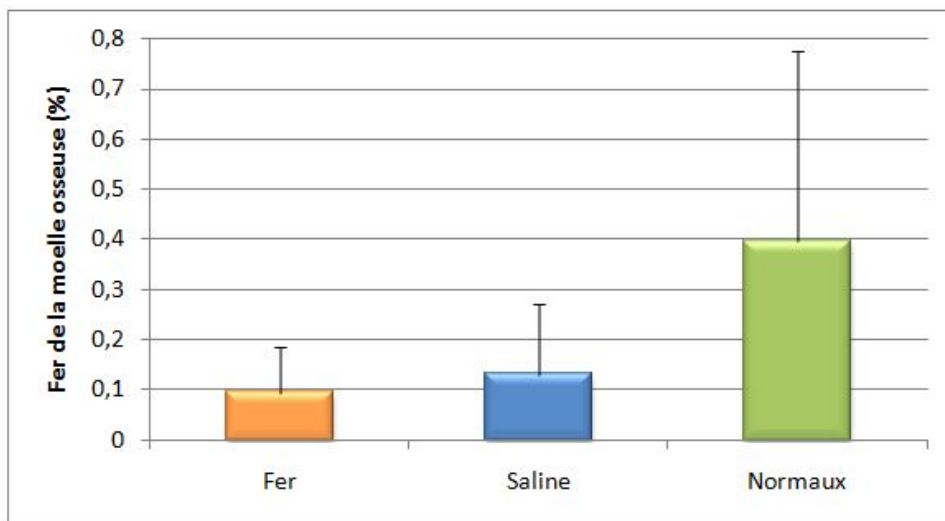
#### 1.4.2. Fer de la moelle osseuse

Une très faible quantité de fer a été observée à la lecture des lames histologiques de la moelle osseuse colorée au bleu de Prusse chez les individus du groupe traitement, contrôle et les individus normaux (Figure 18). Graphiquement, on note des réserves de fer plus importante chez les oiseaux normaux par rapport à ceux qui ont été anémiques traités ou non (Figure 19).

Cependant, aucune différence statistique n'existe au niveau de la moyenne chez les individus des trois groupes ( $p = 0,29$ ). Une importante variabilité dans les mesures (écart-type), principalement en ce qui concerne les oiseaux normaux, est aussi observable (Figure 19 et Tableau VI).



**Figure 18 :** Photographie microscopique 600X (objectif 60X) d'une préparation histologique (coloration bleu de Prusse) de moelle osseuse illustrant la faible présence de fer (coloré en bleu, flèches) à t14j chez une crécerelle d'Amérique



**Figure 19 :** Graphique représentant les réserves de fer de la moelle osseuse (%) chez les individus du groupe traitement (fer,  $n=8$ ) et contrôle (saline,  $n=8$ ) à t14j ainsi que chez des individus non anémiques (normaux,  $n=4$ )

**Tableau VI :** Variation des réserves de fer de la moelle osseuse (%) chez les individus du groupe traitement (fer, n=8) et contrôle (saline, n=8) à t14j ainsi que chez des individus non anémiques (normaux, n=4)

	Fer	Saline	Normaux
Moyenne	0,09	0,13	0,40
Écart type	0,09	0,14	0,38
Minimum	0	0	0,08
Maximum	0,27	0,39	0,91

### 1.5. Oiseaux retirés du projet et mortalités

Sur les 40 crécerelles d'Amérique incluses dans le projet, deux (5%) individus provenant des deux premiers groupes à l'étude ont été retirés. À cause du faible volume de sang prélevé à la suite des deux phlébotomies (40 et 42 % du volume sanguin), ceux-ci n'ont pas développé d'anémie suffisante pour être inclus dans le projet (Ht de 0,38 et 0,33 L/L respectivement).

Trois (7,5 %) des oiseaux sont également morts suite aux procédures malgré des manœuvres de réanimation (ventilation assistée, drogues d'urgence, fluides, massage cardiaque). La mort de ces trois individus par arrêt cardiorespiratoire a été constatée immédiatement (n=2) ou deux heures (n=1) suivant la deuxième phlébotomie (t0). Deux de ces oiseaux ne possédaient pas un Ht  $\leq$  0,30 L/L (Ht de 0,35 et 0,32 L/L) au moment de leur mort et un volume de sang total respectant le protocole avait été prélevé (57,7 et 60 % du volume sanguin). Ces derniers sont morts avant l'administration du traitement. En ce qui concerne le troisième individu, celui-ci était déjà anémique au moment de la deuxième phlébotomie (Ht de 0,28 L/L) et une quantité plus importante de sang a été retirée (66,5 % du volume sanguin suite aux deux phlébotomies). Cet oiseau faisait partie du groupe contrôle et a donc reçu une injection de NaCl 0,9 %.

## 1.6. Nécropsies

Aucune anomalie n'a pu être identifiée à la nécropsie macroscopique des 35 individus ayant participé entièrement au projet. Cependant, deux oiseaux appartenant au groupe traitement présentaient une décoloration et une déformation punctiforme du muscle pectoral au site d'injection probable du fer dextran. Plusieurs des individus présentaient des follicules ovariens bien développés.

Une nécropsie microscopique et macroscopique a été réalisée par le Service de diagnostic en pathologie de la faune de la Faculté de médecine vétérinaire (Centre québécois sur la santé des animaux sauvages, CQSAS) pour les trois oiseaux morts en procédures. Celle-ci a révélé la présence de calcifications métastatiques du myocarde chez l'individu mort 2 h suite à la deuxième phlébotomie. En ce qui concerne les deux autres oiseaux, la cause de la mort probable est le choc hypovolémique. Des foyers d'hématopoïèse extramédullaires ont été observés dans le foie de ces deux individus. L'un de ces oiseaux présentait également une faible densité cellulaire de la moelle osseuse.

## 2. Oiseaux de proie sauvages

### 2.1. Prévalence de l'anémie

#### 2.1.1. Lors du projet

Durant toute la durée du projet, soit pendant une période de 1 an et demi, 12 oiseaux ont été inclus dans l'étude (Tableau VII). Sur les 176 oiseaux où une évaluation de l'Ht a été faite 23,3 % étaient anémiques ( $Ht < 0,35$  L/L) et 11,9 % avaient une valeur d'Ht  $\leq 0,30$  L/L. Un grand nombre d'individus (167)



n'ont donc pas eu d'évaluation de l'Ht à l'admission durant cette période. Celle-ci n'a pas été réalisée pour diverses raisons :

- Animal en bonne santé et relâché rapidement suite à l'admission (3 %)
- Très jeune oiseau (13 %)
- Animal mort ou euthanasié rapidement suite à son admission (27%)
- Manque de temps ou omission du vétérinaire (57 %)

**Tableau VII** : Nombre d'oiseaux de proie et d'urubus à tête rouge reçus à la COP et inclus dans le projet entre le 1<sup>er</sup> janvier 2009 et le 20 août 2010

	Nombre d'oiseaux
Admis vivant	343
Ht pris à l'admission	176
Anémique (Ht < 0,35 L/L)	41
Ht ≤ 0,30 L/L	21
Inclus dans le projet	12
Ayant terminé le projet	6

Sur les 21 oiseaux possédant le critère hématologique ( $Ht \leq 0,30$  L/L) pour être admis dans le projet, seulement 12 ont été inclus étant donné la présence de mortalité avant le début officiel de l'étude ( $n=3$ ), d'individus très jeunes ( $n=4$ ) ou par manque de temps et omission du vétérinaire ( $n=2$ ). Uniquement six individus, soit 50 % des oiseaux inclus, ont participé à l'ensemble du projet. En effet, un individu n'était plus anémique lors de son entrée officielle dans l'étude (Buse à queue rousse,  $Ht = 0,38$  L/L), un autre a été retiré du projet pour transfusion sanguine, trois sont morts en soin et un dernier a été euthanasié pour des raisons humanitaires (pour détails voir section 2.2. Portrait des individus inclus dans le projet).

### 2.1.2. Rétrospective à la Clinique des oiseaux de proie (COP)

Depuis les débuts de l'enregistrement des données hématologiques de la COP, 22,6 % des individus où une évaluation de l'Ht a été faite ont eu un diagnostic d'anémie (Tableau VIII).

**Tableau VIII** : Nombre d'oiseaux de proie et d'urubus à tête rouge avec évaluation de l'Ht entre le 1<sup>er</sup> décembre 1986 et le 18 janvier 2011

	Nombre d'oiseaux
Ht pris à l'admission	1036
Anémique (Ht < 0,35 L/L)	234 (22,6 %)
Ht ≤ 0,30 L/L	137 (13,2 %)

### 2.2. Portrait des individus inclus dans le projet

Parmi les 12 oiseaux du projet, six ont été inclus dans le groupe traitement (injection IM de fer dextran) et six dans le groupe contrôle (injection IM de NaCl 0,9 %). Le tableau IX présente un portrait global de ces individus. Celui-ci illustre l'état de l'oiseau à son arrivée (état de chair et signes cliniques), le traitement qui lui a été administré (fer dextran ou saline), les valeurs hématologiques lors de son suivi (Ht, pourcentage de réticulocytes, de polychromatophiles et fer plasmatique), le type d'anémie suspectée à la lumière de ces informations, l'issue de l'oiseau (relâché, euthanasié, mort en soin) et, le cas échéant, la cause probable de la mort suite à la nécropsie.

**Tableau IX** : Portrait global des 12 oiseaux sauvages inclus dans le projet entre le 1<sup>er</sup> janvier 2009 et le 20 août 2010

# Projet	Espèce	EC*	Signes cliniques à l'admission	Traitement	Temps	Ht (L/L)	Poly (%)	Réti (%)	Fer plasma (µmol/L)	Types d'anémie suspectés	Issue	Résultat de nécropsie
1	Grand-duc d'Amérique	4	- Alerte/Faible	Saline	0	0,30	34,2	52,5	3,9	1- Hémorragie externe	Relâche après 200 j	
			- Muqueuses pâles		2j	0,30	20,8	57,5	4,7			
			- Plaies de captivité		7j	0,36	8,3	9,8	4,0			
					14j	0,39	6,9	10,7	11,5			
					25j	0,39	4,6	3,9	12,9			
2	Grand-duc d'Amérique	1,5	- Abattue/Faible	Fer	0	0,20	14,4	14,1	17,0	1- Déficience nutritionnelle 2- Hémorragie interne	Relâche après 45 j	
			- Déshydraté 5%		2j	0,20	27,3	25,6	19,9			
			- Muqueuses pâles		9j	0,40	5,4		18,5			
			- Poils porc-épic		16j	0,40	2,3	5,2	21,0			
					21j	0,44	3,3	7,7	19,0			
3	Faucon émerillon	2	- Alerte	Fer	0	0,26	3,2			1- Hémorragie interne/externe 2- Déficience nutritionnelle 3- Condition chronique	Euthanasie après 6 j (projet non complété)	
			- Déshydraté 5%		2j	0,25	20,9	11,8				
			- Muqueuses pâles		9j	0,35	23,8	29,0				
			- Luxation poignet									
			- Hématome									

# Projet	Espèce	EC*	Signes cliniques à l'admission	Traitement	Temps	Ht (L/L)	Poly (%)	Réti (%)	Fer plasma (μmol/L)	Types d'anémie suspectés	Issue	Résultat de nécropsie
4	Crécerelle d'Amérique	2	- Amorphe - Déshydraté 10% - Hypothermie - Muqueuses pâles - Détresse respiratoire - Hématomes	Saline	0	0,17	0	0		1- Déficience nutritionnelle 2- Condition chronique 3- Hémorragie interne	Mort en soin après 1 j (projet non complété)	Suspicion d'infection chronique (aucun agent isolé)
5	Buse à queue rousse	1	- Abattue - Déshydraté 10% - Muqueuses pâles - Stomatite - Hétérophilie - <i>Leucocytozoon</i> 3+	Saline	0 2j 7j	0,15  0,48	36,0 31,8 20,2	48,6  23,8		1- Déficience nutritionnelle 2- Condition chronique 3- Hémolytique	Mort en soin après 11 j (projet non complété)	Aspergillose
6	Buse de Swainson	1,5	- Abattue - Déshydraté 5% - Hypothermie - Muqueuses pâles - Sang autour du cloaque	Saline	0	0,10	1,3	10,6		1- Déficience nutritionnelle 2- Hémorragie interne/externe	Mort en soin près 6 j (projet non complété)	Inanition

# Projet	Espèce	EC*	Signes cliniques à l'admission	Traitement	Temps	Ht (L/L)	Poly (%)	Réti (%)	Fer plasma (μmol/L)	Types d'anémie suspectés	Issue	Résultat de nécropsie
7	Buse à queue rousse	2,5	- Alerte - Déshydraté 5% - Muqueuses pâles - Fracture ouverte humérus - Hématomes	Fer	0	0,38		41,7	8,7	1- Hémorragie externe	Relâche après 75 j (projet non complété, non anémique)	
8	Faucon pèlerin	3,5	- Alerte/Agressif - Muqueuses pâles - Fracture ouverte carpométacarpe	Saline	0 2j 7j 14j 28j	0,28 0,33 0,35 0,36 0,47	10,5 15,4 13,9 9,7 7,7	17,7 24,2 21,1 8,1 12,3	2,0 3,6 7,3 9,3 4,6	1- Hémorragie externe	Toujours en soin depuis 326 j	
9	Urubu à tête rouge	3,5	- Abattue - Déshydraté 10- 12% - Hypothermie - Sang sur le plumage - Hématomes - Plaies	Saline	0 2j	0,10		28,0		1- Hémorragie interne/externe (possibilité d'intoxication au rodenticide)	Relâche après 51 j (projet non complété, transfusion sanguine, voir Tableau X)	

# Projet	Espèce	EC*	Signes cliniques à l'admission	Traitement	Temps	Ht (L/L)	Poly (%)	Réti (%)	Fer plasma (µmol/L)	Types d'anémie suspectés	Issue	Résultat de nécropsie
10	Grand-duc d'Amérique	1	- Alerte/Calme - Déshydraté 5% - Muqueuses pâles - Hétérophilie - Syndrome de Horner	Fer	0 2j 7j 14j 28j	0,22 0,26 0,37 0,41 0,42	18,6 24,6 12,7 4,4 6,3	54,0 44,2 28,8 3,9	53,1 ** 5,4 9,9	1- Déficience nutritionnelle 2- Condition chronique 3- Hémorragie interne	Relâche après 74 j	
11	Grand-duc d'Amérique	1	- Alerte/Faible - Hypothermie - Muqueuses pâles - Plaies pattes/ailes	Fer	0 2j 7j 14j	0,12 0,14 0,41 0,41	10,5 21,2 34,8 2,0	5,0 44,7 1,5	68,2*** 5,1 23,6	1- Déficience nutritionnelle 2- Hémorragie interne/externe	Relâche après 86 j	
12	Urubu à tête rouge	3,5	- Très alerte - Déshydraté 5% - Muqueuses pâles - Fracture ouverte humérus - Plaies - Hématomes - Sang dans le bec	Fer	0 2j 7j 14j 28j	0,24 0,28 0,48 0,40 0,46	17,1 32,2 18,1 8,1 7,8	22,2 30,3 14,1	9,6 12,6 6,7 12,2	1- Hémorragie interne/externe	Mort en soin après 56 j	Aspergillose

\* État de chair (EC) : 1=Émacié, 2=Maigre, 3=Moyen, 4=Bon, 5=Obèse

\*\* Lipémie 3+

\*\*\* Valeur contrôlée

Six espèces différentes d'oiseaux ont participé au projet : quatre (34 %) grands-ducs d'Amérique, deux (17 %) buses à queue rousse, deux (17 %) urubus à tête rouge, une (8%) buse de Swainson, un (8 %) faucon pèlerin, un (8 %) faucon émerillon et une (8 %) crécerelle d'Amérique. Parmi les six individus du groupe traitement, quatre (67 %) ont été relâchés, un (16,5 %) est mort en soin et un (16,5 %) a été euthanasié. En ce qui concerne les six oiseaux du groupe contrôle, trois (50 %) sont morts en soin, deux (33 %) ont été relâchés et un (17 %) est toujours en soins à COP. Cinq oiseaux ont été admis avec un Ht < 0,20 L/L. Parmi ceux-ci, trois sont morts en soins. Trois des quatre individus morts durant le projet avaient donc un Ht < 0,20 L/L. Les deux autres oiseaux fortement anémiques ont été relâchés à la fin de leur traitement, dont un suite à une transfusion sanguine.

L'urubu à tête rouge transfusé a reçu 20 mL de sang entier homologue (urubu à tête rouge gardé en captivité à la COP) en injection lente sur 25 minutes via la veine métatarsienne médiale. Le donneur avait un Ht de 0,35 L/L au moment de la transfusion et aucune réaction adverse n'a été observée tout au long de la procédure. L'oiseau a regagné un Ht  $\geq$  0,35 L/L quatre jours post-transfusion (Tableau X).

**Tableau X** : Évolution de l'Ht (L/L) et des ST (g/L) suite à une transfusion sanguine homologue chez un urubu à tête rouge (le temps 0 correspond au moment de la transfusion)

Temps	Ht (L/L)	ST (g/L)
0	0,10	20
1j	0,17	30
2j	0,22	35
4j	0,37	32
9j	0,45	33
23j	0,50	48

Plusieurs hypothèses concernant les types d'anémie suspectés peuvent être avancées pour chacun des individus. En tenant compte de l'hypothèse

numéro 1 (type d'anémie suspectée du tableau IX), six oiseaux (trois dans chaque groupe) auraient souffert d'anémie régénératrice par perte de sang (hémorragie interne et/ou externe) et six (trois dans chaque groupe) d'anémie non régénératrice par déficience nutritionnelle.

### 2.3. Récupération des oiseaux anémiques

Tous les individus du groupe traitement (n=4) et du groupe contrôle (n=2) qui ont terminé le projet n'étaient plus anémiques ( $Ht \geq 0,35$  L/L) près de t7j (Tableau IX). Les oiseaux ont tous présenté une anémie régénératrice à t0 et cette anémie a été régénératrice jusqu'aux alentours de t7j ou t14j pour les deux groupes. Les valeurs de fer plasmatique qui ont été obtenues sont très variables d'un sujet à l'autre. La durée moyenne de l'hospitalisation des oiseaux du groupe traitement (n=4) est de 54,5 jours et de 263 jours pour le groupe contrôle (n=2).



## Chapitre 4 – Discussion

---

### 1. Crécernelles d'Amérique issues de la captivité

#### 1.1. Récupération des oiseaux anémiques

Aucun effet sur l'érythropoïèse n'a pu être détecté chez les oiseaux ayant reçu une injection IM de 10 mg/kg de fer dextran en ce qui concerne les valeurs d'Ht, le pourcentage de cellules érythroïdes immatures, les signes cliniques et la densité cellulaire de la moelle osseuse. L'administration de fer dextran ne semble donc pas avoir d'effet stimulateur sur l'érythropoïèse chez des oiseaux souffrant d'anémie par perte de sang externe aiguë. Un supplément de fer ne serait également pas nécessaire à la bonne réponse de la moelle osseuse suite à ce type d'anémie chez les oiseaux de proie étudiés. Certains auteurs avancent d'ailleurs que les oiseaux auraient développé des mécanismes très performants d'absorption du fer afin de répondre à la demande lors de la ponte (Saiz et al, 1993). Chez la poule, chaque œuf pondu contient environ 1,5 mg de fer, soit environ 25 % des réserves labiles du foie (Leeson & Summers, 2001). Afin de fournir le fer nécessaire à la production des œufs, l'organisme doit en augmenter son absorption intestinale (Garcia et al, 1986; Ramis & Planas, 1978; Ramsay & Campbell, 1954; Saiz et al, 1993). Cela semble d'autant plus vrai chez les espèces carnivores strictes telles que les oiseaux de proie qui ingèrent de très fortes quantités de fer hème beaucoup plus disponible que le fer non-hème des herbivores (Sheppard & Dierenfeld, 2002). En outre, en médecine des mammifères domestiques et chez l'homme, l'administration de fer dextran n'est pas recommandée dans le cas d'anémie par perte de sang externe aiguë, car la régulation des mécanismes d'absorption et de mobilisation du fer est suffisante pour répondre aux besoins (Kumpf, 2003; Mahaffey, 1986).

Nos résultats de la densité cellulaire de la moelle osseuse 14 jours post-traitement (fer dextran et saline) sont également comparables à ceux des oiseaux normaux qui n'était pas anémiques et n'ayant reçu aucun traitement. Cela suppose que l'activité érythropoïétique de la moelle osseuse est retournée à son niveau de base 14 jours suite à l'anémie induite. Ce chiffre correspond également au moment où l'Ht et le pourcentage des cellules érythroïdes immatures ont retrouvé leurs valeurs normales de base. À cause de son caractère invasif, l'histologie a été réalisée uniquement en post-mortem, soit à t14j. Nos résultats ne permettent donc pas de déterminer s'il y a présence d'une différence dans la densité cellulaire de la moelle osseuse entre les individus ayant reçu une administration de fer ou de la saline immédiatement après l'injection, et ce, jusqu'à 14 jours post-traitement. Pour obtenir une évaluation plus représentative de la lignée érythroïde, l'établissement du ratio M : E de la moelle osseuse aurait pu être fait. Étant donné la méthode d'évaluation choisie et le manque d'information venant de la littérature sur l'étude des cellules de la moelle osseuse à l'histologie, il n'a pas été possible de réaliser ce ratio. En effet, l'histologie permet une meilleure analyse de la densité cellulaire, mais rend plus difficile l'évaluation de la morphologie des cellules individuelles par la présence de superposition (Freeman, 2000). La cytologie et l'utilisation de marqueurs immunologiques ou cytochimiques auraient donc été plus performantes pour évaluer la régénérescence érythroïde de la moelle osseuse (Freeman, 2000).

Il aurait également été intéressant d'évaluer les effets d'une administration de fer dextran sur la récupération d'oiseau souffrant d'une déficience en fer, soit par exemple à la suite d'une perte de sang externe chronique. Deux projets pilotes (Annexe IV) ont été réalisés afin de créer une anémie par déficience en fer via une perte de sang externe chronique bihebdomadaire de 20 % ou de 30-40 % du volume sanguin total des oiseaux. Aucune anémie n'a cependant été produite à l'aide de ces protocoles. L'effet d'une injection de fer n'a donc pas pu être testé sur l'anémie par déficience en fer dans notre

étude. Ce type de protocole a pourtant déjà permis la création d'une anémie par déficience en fer chez le rat en prélevant 20-25 % du volume sanguin total par semaine pour sept semaines (Burkhard et al, 2001). Cela suggère encore une fois que les crécerelles d'Amérique ont des mécanismes de récupération de l'anémie et d'absorption du fer très performants. Des modèles de déficience en fer d'origine nutritionnelle ont aussi été développés chez les mammifères domestiques et les oiseaux granivores (Amine & Hegsted, 1971; Burkhard et al, 2001; Hunter, 1978). Ce genre de protocole est par contre peu réalisable chez des oiseaux qui se nourrissent uniquement de proies comme les rapaces. Pour ce faire, il faudrait utiliser une diète commerciale adaptée au régime alimentaire des oiseaux de proie et modifiée pour la carence en fer, mais celle-ci n'est pas disponible.

Nos manipulations ont aussi permis de confirmer l'importante résistance des oiseaux à la perte de sang ainsi que l'impressionnante récupération de ceux-ci suite à une anémie. Le prélèvement d'environ 55 % du volume sanguin total des crécerelles d'Amérique a eu pour effet de créer une forte anémie (Ht moyen de 0,21 L/L suite aux deux phlébotomies) sans toutefois occasionner des signes cliniques importants chez la majorité des individus (80 %). Seuls de légers signes de faiblesse et de la pâleur des muqueuses ont été observés un, deux et trois jours post-phlébotomie, ce qui correspond d'ailleurs au moment de la plus forte anémie chez les oiseaux. Un choc hypovolémique irréversible a cependant amené la mort de deux des individus à l'étude (taux de mortalité de 5 %). Le choc hypovolémique irréversible survient lors de réduction de la perfusion périphérique et de l'apport en oxygène du cerveau et du cœur (Lichtenberger, 2004a). Ce dernier semble survenir chez les oiseaux lorsque plus de 60 % du volume sanguin est perdu et que les mécanismes de contrôle de l'hypovolémie sont dépassés (Lichtenberger, 2004a). Certains facteurs, tels que la mue, la ponte et l'amélioration de la technique de prélèvement (plus grand volume en peu de temps) ont pu contribuer au décès des deux oiseaux de notre étude. En effet,

ces individus présentaient des rémiges primaires en croissance au moment de leur mort, plusieurs œufs ont été observés dans les volières de ces oiseaux et ceux-ci faisaient partie des derniers groupes à l'étude. Les phlébotomies ont été réalisées dans un temps beaucoup plus restreint chez les derniers individus comparativement à ceux des premiers groupes, ce qui a pu contribuer à la création d'un choc hypovolémique rapide. Il est connu que les oiseaux peuvent subir une diminution de leurs valeurs d'Ht en période de ponte et de mue (Garcia et al, 1986; Morgan, 1975; Morton, 1994; Wagner et al, 2008). La grande demande de sang pour la pousse des plumes peut également favoriser la création d'une hypovolémie irréversible (Morton, 1994). Une variabilité individuelle de la tolérance à la perte de sang peut aussi être en cause. Deux oiseaux ont également été retirés du projet faute d'anémie. Des erreurs techniques causées par le manque d'expérience du manipulateur n'ont pas permis le retrait d'une quantité de sang suffisante afin d'amener une anémie assez forte pour permettre l'inclusion des oiseaux dans le projet ( $Ht \leq 0,30$  L/L). Le prélèvement de 40 et 42 % du volume sanguin total des oiseaux a causé une baisse de l'Ht jusqu'à 0,38 et 0,33 L/L respectivement chez ces deux individus. Ces chiffres démontrent encore une fois l'importante résistance de la crécerelle d'Amérique à la création d'une anémie par perte de sang. Un autre exemple de cette résistance a été illustré lors de la réalisation des projets pilotes sur la formation d'une anémie par déficience en fer suite à une perte de sang externe chronique (Annexe IV). Le prélèvement sanguin bihebdomadaire correspondant à 2 % ou 3-4 % du poids corporel des oiseaux pour quatre semaines n'a pas permis de réduire les valeurs d'Ht.

Suite à l'anémie, une importante et très rapide régénérescence de la moelle osseuse a été observée. Dès 24 h post-phlébotomies, un début de régénérescence de la moelle osseuse était perceptible dans la circulation périphérique par la présence de plus de 10 % de réticulocytes ou de polychromatophiles. Le pic de régénérescence des cellules érythroïdes étant

situé à trois jours post-phlébotomie. C'est également à ce moment que le pourcentage de très jeunes cellules érythroïdes, les rubricytes, est le plus important. D'autres études portant sur la réponse érythrocytaire suite à une perte de sang chez les oiseaux ont également identifié ce pic de régénérescence de la moelle osseuse trois jours suite aux phlébotomies (Christie, 1979; Gildersleeve et al, 1985b; Lichtenberger et al, 2009). Chez des chats souffrant d'une anémie par perte de sang équivalente, on remarque le début d'une régénérescence active de la moelle osseuse en quatre jours suite à une perte de sang avec un pic réticulocytaires entre neuf et 20 jours, ce qui est trois à quatre fois plus long que chez la crécerelle d'Amérique (Alsaker et al, 1977; Cramer & Lewis, 1972). Des GR binucléés ou présentant des figures mitotiques en circulation ont également été observés et reflètent l'importante régénérescence de la moelle osseuse (Campbell & Ellis, 2007). En 14 jours, les oiseaux ne montraient plus aucun signe hématologique d'anémie et de régénérescence de la moelle osseuse. Les valeurs d'Ht et le pourcentage de cellules érythroïdes immatures étant retourné aux valeurs normales de base pour les individus. À cause du plus long intervalle de temps entre les deux dernières prises de données, ce retour à la normale des valeurs hématologiques se serait probablement produit entre sept et 14 jours post-phlébotomie. Ces intervalles de prélèvements ont été choisis afin d'éviter d'accentuer l'anémie des oiseaux et ainsi interférer dans le processus de rétablissement érythropoïétique. Les oiseaux n'étaient d'ailleurs plus considérés comme anémiques ( $Ht \geq 0,35$  L/L) dès le septième jour. En fait, toujours à cause de l'intervalle de prises de données choisies, le retour à la normale de l'Ht a pu se produire entre trois et sept jours post-traitement. D'ailleurs, des études similaires ont rapporté un retour plus rapide aux valeurs normales de bases chez d'autres espèces aviaires. Lors de création d'une anémie hémolytique chez le poulet, le retour à la normale des valeurs hématologiques s'est effectué en quatre à huit jours (Christie, 1979). Chez la caille ayant subi une perte de sang de 30 % de son volume sanguin, le retour des valeurs hématologiques de bases a été aperçu

trois jours suite à la phlébotomie (Gildersleeve et al, 1985a; Gildersleeve et al, 1985b; Schindler et al, 1987). Dans les expérimentations de Bos (1992) où le même type de protocole que pour notre étude a été réalisé dans le but de créer une anémie chez le pigeon, les valeurs d'Ht sont retournées dans les normales six jours après les phlébotomies, et ce, peu importe le traitement administré (saline, fer dextran, transfusion sanguine homologue et hétérologue). À titre de comparaison, il prend 24-25 jours à un mammifère pour se remettre d'une telle perte de sang (Alsaker et al, 1977; Cramer & Lewis, 1972). Les nécropsies effectuées par le Service de diagnostic en pathologie de la faune de la Faculté de médecine vétérinaire (Centre québécois sur la santé des animaux sauvages, CQSAS) ont révélé la présence de foyers d'hématopoïèse extramédullaire au niveau du foie des deux crécerelles mortes d'hypovolémie. Cela suggère donc une très forte activité érythropoïétique suite à la perte de sang (Barnes et al, 2008). La capacité d'activer des zones d'hématopoïèse dans d'autres organes en plus de la moelle osseuse en situation de grande demande, tel que l'anémie semble donc contribuer à l'importante régénérescence érythrocytaire des oiseaux.

## 1.2. Réticulocytes et polychromatophiles

Notre étude n'a pas permis d'identifier de biais systématique entre le calcul du pourcentage de polychromatophiles et de réticulocytes de la forme anneau. Nos données confirment donc ceux de Johns et son équipe (2008) suggérant que ces deux méthodes fournissent des résultats équivalents. Une plus importante variation dans la qualité des frottis sanguins colorés au NBM par rapport à ceux colorés au *Dip Quick* a cependant été remarquée. Cette variation a été observée entre différents frottis réalisés par le même manipulateur, mais particulièrement lorsque ceux-ci étaient faits par des manipulateurs différents (lors des expérimentations effectuées chez les oiseaux de proie sauvages). D'un frottis à l'autre, la coloration passe d'un

bleu foncé net à un bleu vert pâle avec des ribosomes difficilement identifiables. Même avec un protocole de coloration préétabli, la qualité de la coloration au NMB semble plus variable que celle au *Dip Quick*. La coloration au NMB serait donc une méthode moins reproductible. D'ailleurs, de légères divergences dans le protocole de coloration au NMB auraient tendance à créer d'importantes altérations au niveau du frottis et donc dans sa lecture (Johns et al, 2008). La qualité cellulaire est également moindre chez les frottis colorés au NMB. En effet, un plus grand nombre de cellules lésées ont été observées sur ces frottis sanguins altérant ainsi leur lecture. Des bris mécaniques faits aux cellules sanguines pourraient être en cause étant donné que celles-ci sont plus souvent manipulées lors de la coloration au NMB. Effectivement, pour permettre la dilution du sang avec le colorant, les cellules doivent passer plus fréquemment dans des seringues ou pipettes de prélèvement (Campbell & Ellis, 2007). Le seul avantage de la coloration au NMB dans l'identification des réticulocytes qui a été perçu par le lecteur est que cette technique présenterait un degré inférieur de subjectivité. En effet, dans des conditions optimales de lecture, un réticulocyte peut-être plus facilement identifiable qu'un polychromatophile étant donné que ces derniers ne sont repérables que par la coloration plus basophile de leur cytoplasme et la plus faible condensation de la chromatine leur noyau (Campbell & Ellis, 2007). Cette impression est d'ailleurs partagée par d'autres auteurs (Johns et al, 2008). À des fins d'étude de la régénérescence de la moelle osseuse suite à une anémie chez les oiseaux, réaliser une deuxième coloration pour mettre en évidence les réticulocytes ne semble donc pas nécessaire étant donné que la coloration standard donne de très bons résultats et qu'elle permet également l'identification de toute la lignée des cellules érythroïdes immatures.

Pour ces deux types de pourcentage cellulaire, une plus importante variation interindividuelle est remarquée avec l'augmentation des valeurs. Les plus grandes variations sont d'ailleurs perceptibles à t2j, t3j, et t14j. Étant donné

que ces pourcentages viennent d'un comptage effectué manuellement, il est probable que ces fluctuations soient la résultante d'erreurs techniques. En effet, les risques d'erreurs de comptage sont plus élevés lorsqu'un nombre plus important de cellules est compté.

### 1.3. Effets secondaires

Seule une myosite localisée légère à modérée caractérisée par la présence d'une grande quantité de macrophages ayant phagocyté du fer a été identifiée 14 jours suite à l'administration de fer dextran IM. Cette réaction inflammatoire a été observée au site d'injection du fer chez six des huit individus à l'étude. Il est fort probable qu'une myosite semblable soit survenue chez les deux autres spécimens ayant reçu du fer, mais que celle-ci ait été manquée par une erreur technique, c'est-à-dire que la coupe histologique n'a pas été réalisée à l'endroit exact de l'injection. Cela suggère que la réaction inflammatoire créée par l'administration de fer est peu invasive et qu'elle est localisée uniquement au niveau du site d'injection. Des effets secondaires majeurs comme ceux décrits chez les mammifères et l'homme n'ont pas été identifiés chez les oiseaux du projet. En effet, aucune nécrose musculaire ou mortalité ainsi qu'aucun choc anaphylactique n'a été associé à l'injection de fer.

Les valeurs de CK plasmatique obtenues abondent également dans ce sens. Comme chez les mammifères, en cas de bris cellulaire (nécrose, convulsion, injection IM) au niveau des muscles squelettiques, lisses, du cœur et du cerveau, une libération marquée des enzymes musculaires a lieu dans la circulation (Hochleithner, 1994; Joseph, 1999). Étant donné leur puissance de vol et leur forte musculature, il n'est pas rare d'observer de fortes valeurs de CK plasmatique chez les oiseaux de proie (Joseph, 1999). Une étude réalisée chez des oiseaux de proie de six espèces différentes provenant de la captivité et de l'état sauvage (n=199) a révélé des valeurs de CK entre 218 et



850 U/L (Jennings, 1996). Chez des crécerelles d'Amérique jugées normales (tous d'âge et de sexe confondus), la Clinique des oiseaux de proie de la Faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Montréal, a recueilli des valeurs de CK plasmatique oscillant entre 469 et 2785 U/L, avec une moyenne des valeurs près de 970 U/L (n=12). Chez le pigeon, on note une élévation de la CK 72 h suite à une nécrose musculaire ou une myosite (Lumeij et al, 1988). Une augmentation de la CK peut également être constatée en 45 minutes (Dabbert & Powell, 1993) et pourrait persister jusqu'à 8-9 jours (Hanley et al, 2005) suite à une atteinte musculaire, telle que la myopathie de capture. Il est donc fort probable qu'en présence de dommages musculaires importants, une élévation de la CK aurait été perceptible 3 jours suite à l'injection du fer. D'importantes augmentations de la CK ont d'ailleurs été rapportées chez l'homme où une rhabdomyolyse a été provoquée par une injection de fer dextran IM (Foulkes et al, 1991). Malgré la présence d'une élévation significative de la CK plasmatique suite à l'injection de fer (trois et 14 jours post-injection), cette augmentation n'est pas très impressionnante cliniquement. En effet, la plus importante valeur de CK plasmatique enregistrée a été de 769 U/L chez un individu ayant reçu une injection de saline. L'ensemble des valeurs qui ont été obtenues est donc dans les limites de la normale proposée par plusieurs auteurs. On peut alors dire que cette élévation de la CK chez les individus du groupe traitement n'est pas cliniquement significative. L'administration de fer dextran IM ne causerait pas suffisamment de dommage musculaire pour créer une élévation des valeurs de CK plasmatique.

On peut donc conclure qu'une administration de fer dextran à 10 mg/kg IM cause plus d'inflammation locale qu'une injection IM de NaCl 0,9 %, mais qu'il est peu probable que cette inflammation ait un impact important sur la physiologie et la bonne fonction des muscles de l'oiseau. Ce traitement semble donc être sécuritaire chez la crécerelle d'Amérique. Des études réalisées chez des espèces aviaires ont d'ailleurs démontré des effets

secondaires plus importants à la suite d'une administration IM d'antibiotique. En effet, de la dégénérescence musculaire ainsi que de la nécrose avec infiltration de macrophages ont été observées sept jours après l'injection de streptomycine et de tétracycline chez la poule (Blom & Rasmussen, 1976). Une augmentation de la CK de 20 fois supérieures aux valeurs normales a été notée 16 h à la suite d'une injection de doxycycline chez le pigeon, et ce pour une durée d'environ 3 jours (Lumeij et al, 1988). En tenant compte des résultats de cette expérimentation, il est possible qu'une élévation de la CK plasmatique suite à l'administration de fer ait eu lieu dans notre étude, mais que celle-ci n'ait pas été enregistrée étant donné l'absence de donnée entre un et trois jours post-injection. Dans cette étude, de la dégénérescence et de la nécrose musculaire ont également été observées à l'histologie entre 4 et 9 jours post-injection (Lumeij et al, 1988).

#### 1.4. Réserves de fer

Lors de notre étude, l'administration de 10 mg/kg de fer dextran n'a pas influencé les valeurs de fer plasmatique et les réserves de fer de la moelle osseuse. En effet, des valeurs comparables ont été obtenues chez les oiseaux des deux groupes. De plus, l'histologie des muscles pectoraux a montré une importante quantité de fer phagocyté par les macrophages au site d'injection du fer (1.3. Effets secondaires). Ces résultats suggèrent que le fer dextran administré par voie IM n'est pas absorbé de manière adéquate chez les oiseaux et ainsi peu disponible en circulation et dans les organes de réserve. Une surcharge du système réticuloendothéliale pourrait donc avoir lieu suite à l'administration massive de fer IM causant un transport graduel du fer dans la circulation sanguine et la moelle osseuse. Cela ne semble pas vrai chez le porc où de fortes augmentations du fer plasmatique et des réserves de fer hépatique sont observées 24 h suite à l'injection de fer dextran IM (100 mg/kg) en plus d'une élévation de l'Ht et du comptage de GR quatre jours post-injection (Braude et al, 1962; Lipinski et al, 2010).

Cependant, chez le porc, des doses dix fois plus élevées sont utilisées comparativement aux oiseaux. Il est donc probable que le dosage utilisé chez les espèces aviaires est insuffisant pour permettre l'augmentation des réserves de fer de l'organisme et ainsi pourrait expliquer l'absence de variation des valeurs de fer plasmatique et de fer de la moelle osseuse dans notre étude. D'autres études ont démontré que le fer administré par voie IM chez le porc est presque totalement absorbé en une semaine et qu'il permet l'élévation des réserves de fer du foie et de la rate jusqu'à deux semaines suite à l'injection (Sladic-Simic & Cvetkovic, 1978). Cela propose une absorption rapide du fer dextran administré par voie IM ainsi que son entreposage dans les organes de réserves. Chez l'homme, on a cependant montré une augmentation rapide de la ferritine sérique suite à une injection de fer dextran IM, mais aucun changement dans les valeurs de fer plasmatique (Dawson et al, 2006). Le fer dextran administré IM serait donc généralement bien absorbé, mais le fer plasmatique ne semble pas être une méthode optimale d'évaluation chez toutes les espèces. Des cas de mauvaise absorption du fer IM ont également été identifiés chez l'homme et seraient entre autres responsables de la rhabdomyolyse chez ces patients (Foulkes et al, 1991). Une étude réalisée chez le porc a démontré que le fer venant d'une injection de fer dextran IM serait transporté par le système lymphatique en plus de la circulation sanguine (Braude et al, 1962). Cela pourrait avoir un impact sur la bonne distribution du fer dextran chez les oiseaux étant donné que ceux-ci possèdent un réseau de vaisseaux lymphatiques beaucoup moins important que celui des mammifères (Macwhirter, 2009).

Malgré qu'aucune différence significative ne soit présente en ce qui concerne les valeurs de fer plasmatique et la densité cellulaire de la moelle osseuse pour l'ensemble des individus, des tendances sont cependant perceptibles et proposent une diminution des réserves de fer lors d'anémie par perte de sang externe aiguë. En effet, les valeurs de fer plasmatique (à t0 et t3j) et de la

moelle osseuse (t14j) ont tendance à diminuer chez les individus des deux groupes. La baisse des valeurs de fer plasmatique observée correspond d'ailleurs au moment du pic de régénérescence de la moelle osseuse présent trois jours post-phlébotomie et donc lors de la plus grande activité érythropoïétique. Des différences entre les valeurs de fer plasmatique auraient cependant pu être observées entre les individus des deux groupes immédiatement suite à l'administration du fer, soit avant l'importante augmentation de l'activité de la moelle osseuse pour l'érythropoïèse (t3j). Cette évaluation n'a pas été réalisée étant donné l'intervalle de prélèvement choisi (absence de prises de données entre le temps 0 et 3j). Les réserves de fer de la moelle osseuse semblent également plus importantes chez les individus normaux où aucune anémie n'a été créée et qu'aucun traitement n'a été administré. Ces résultats suggèrent que les besoins en fer pour l'érythropoïèse massive sont tels que l'organisme doit puiser dans ces réserves. Étant donné que la moelle osseuse est le dernier site à être atteint lors de déplétion des réserves de fer (Leeson & Summers, 2001), l'érythropoïèse suite à une importante perte de sang externe aiguë aurait donc pour effet de mobiliser la grande majorité du fer de l'organisme. Le nombre de macrophages ayant phagocyté du fer est cependant très faible chez l'ensemble des oiseaux à l'étude. Cela pourrait être dû au fait que de faibles réserves de fer sont présentes dans la moelle osseuse chez la crécerelle d'Amérique. En effet, il est connu que les réserves de fer sont variables d'un mammifère à l'autre et que peu d'hémosidérine est visible dans la moelle osseuse normale du chat (Smith, 1997).

D'importantes variations entre les mesures ont cependant été notées en ce qui concerne les valeurs de fer plasmatique et de fer de la moelle osseuse. Celles-ci pourraient entre autres contribuer à la non-signifiante de nos résultats. Cela propose également que l'analyse du fer plasmatique ne semble pas être une mesure fiable du fer en circulation chez les oiseaux. Bos (1992) a également observé ce genre de variation dans ces expérimentations

et n'a pas pu tirer de conclusions quant à l'effet du fer dextran sur le fer plasmatique. En ce qui concerne notre étude, ces fluctuations n'ont pas pu être attribuées à des valeurs extrêmes présentées par certains des individus. Il est possible que celle-ci soit entre autres le résultat de facteurs techniques ou extrinsèques tels que la présence d'hémolyse dans l'échantillon (Matheson et al, 2007), le moment du prélèvement sanguin et la condition physiologique des oiseaux. Chez l'homme, le fer plasmatique subit une variation circadienne avec une augmentation en fin de journée et au moment de l'ingestion de viande ou de suppléments de fer (Brugnara, 2003). Cela serait également vrai chez les mammifères domestiques (Stone, 2000). Les écarts entre nos résultats pourraient être secondaires au fait que les phlébotomies n'ont pas toutes été faites au même moment de la journée et que certains oiseaux ont pu ingérer une plus grande quantité de proies que d'autres la veille des prélèvements. La présence de ponte et de mue lors des prélèvements sanguins chez certains oiseaux aurait également pu influencer nos résultats. Effectivement, l'augmentation de l'absorption du fer pour subvenir au besoin de la ponte a pour effet d'élever les valeurs de fer plasmatique (Garcia et al, 1986; Ramis & Planas, 1978; Ramsay & Campbell, 1954). Étant donné la forte quantité de fer contenu dans les plumes, il est probable que la mue altère le métabolisme du fer chez les oiseaux (Sanchez et al, 1987). De faibles corrélations ont également déjà été établies entre les valeurs de fer plasmatique et les réserves de fer hépatique chez des oiseaux atteints d'hémochromatose (Dorrestein, 1992). Des expérimentations effectuées chez les mammifères domestiques et l'homme ont démontré que le fer plasmatique est un paramètre peu représentatif des réserves de fer de l'organisme (Forman & Vye, 1980; Weeks et al, 1989). En ce qui concerne la grande variabilité dans les mesures de fer de la moelle osseuse observée chez les individus normaux, cela suggère que les réserves de fer de la moelle osseuse varient considérablement d'un oiseau à l'autre en fonction de ses caractéristiques individuelles et de sa condition physiologique.

Afin de parfaire l'analyse des réserves de fer aviaire, il serait intéressant de comparer les diverses méthodes d'évaluations hématologiques (fer plasmatique, transferrine sérique, TIBC, pourcentage de saturation de la transferrine, ferritine sérique) entre elles ainsi qu'avec les réserves de fer de la moelle osseuse, du foie et de la rate, afin de déterminer lesquelles de celles-ci sont les plus représentatives des réserves de fer chez les oiseaux.

## **2. Oiseaux de proie sauvages**

### **2.1. Prévalence de l'anémie**

Les résultats de notre étude ont permis de déterminer une prévalence non négligeable de l'anémie chez les oiseaux admis à la Clinique des oiseaux de proie de la Faculté de médecine vétérinaire, soit 23 %. Étant donné que des analyses hématologiques ne sont pas faites systématiquement chez l'ensemble des oiseaux de proie à leur admission à la COP, ce chiffre serait vraisemblablement plus élevé en réalité. Il est effectivement possible que des cas d'anémie ne soient pas diagnostiqués par l'absence d'évaluation ou à cause d'analyse hématologique trop tardive (anémie résolue). Même si ce chiffre est important, un faible nombre d'individus a tout de même été inclus dans le projet sur une période de un an et demi. Pour une multitude de raisons physiologiques et pratiques, uniquement 12 oiseaux ont été inclus dans le projet et de ceux-ci seulement six ont complété les expérimentations. Le faible nombre d'admissions peut également être la conséquence d'un mauvais ajustement du protocole de recherche. En effet, en augmentant à 0,34 L/L la valeur d'Ht minimale pour l'admission d'un oiseau dans le projet, soit immédiatement sous la valeur de référence minimale de 0,35 L/L, 13 oiseaux de plus auraient été inclus dans le projet sur la même période. Un autre facteur qui aurait été intéressant à considérer est le degré de déshydratation des oiseaux. En effet, lors de déshydratation la perte de fluide a pour effet de diminuer la quantité de plasma du sang et ainsi provoquer une

hémococoncentration résultant à l'augmentation de l'Ht et des ST (Samour, 2006). La déshydratation a donc le potentiel de masquer une anémie (Porter, 2005). Des valeurs de corrections auraient pu être établies pour permettre l'inclusion d'oiseaux avec un Ht près de la limite inférieure normale de 0,35 L/L si ceux-ci présentaient également des valeurs élevées de ST (supérieur à la limite haute de 55 g/L) (Porter, 2005). En tenant compte de ces critères, quatre oiseaux de plus auraient été inclus dans le projet. De plus, il est possible que des oiseaux émaciés, hypoprotéïnémiques, déshydratés et anémiques aient de faibles valeurs de ST et un Ht normal (Samour, 2006), ce qui rend difficile l'identification de ce type d'anémie.

## 2.2. Récupération des oiseaux anémiques et fer plasmatique

Le faible nombre d'oiseaux ayant terminé le projet, soit quatre dans le groupe traitement (administration de 10 mg/kg de fer dextran IM) et deux dans le groupe contrôle (administration d'un volume équivalent de NaCl 0,9 % IM), a pour conséquence de rendre impossible la comparaison des individus entre les groupes ainsi que l'analyse statistique des données. Aucune conclusion ne peut donc être tirée des valeurs d'Ht et du pourcentage de cellules érythroïdes immatures pour cette portion du projet. Avec un plus grand nombre d'individus, il aurait été possible de comparer les sujets en fonction de leur degré d'anémie à l'admission ainsi que le type d'anémie suspecté. Il aurait été intéressant de voir si l'administration de fer dextran aurait été profitable dans certaines situations, tel qu'une très forte anémie ou une anémie par déficience en fer. Aucune relation ne peut non plus être établie entre le nombre de jours d'hospitalisation ainsi que l'issue des oiseaux avec le traitement administré étant donné le faible nombre de sujets à l'étude et les conditions pathologiques très différentes de ces individus. Il est tout de même intéressant de mentionner que 50 % des oiseaux à l'étude se sont bien rétablis de leur anémie et ont été relâchés en nature à la suite de leur traitement. Parmi les individus morts en soin, 75 % de ceux-ci (trois oiseaux

sur quatre) avait un Ht très faible, soit  $\leq 0,20$  L/L. Ceci suggère que de petites valeurs d'Ht sont associées à des pronostics plus sombres. Aucune de ces mortalités n'a été associée à une réaction adverse d'une injection de fer dextran. En ce qui concerne les valeurs de fer plasmatique, on constate que comme chez les crécerelles d'Amérique, elles sont très variables d'un oiseau à l'autre. Toujours à cause du faible nombre de spécimens à l'étude, aucune comparaison ne peut être faite entre les deux groupes pour ce paramètre.

### 2.3. Identification du type d'anémie en cause

Cette portion de l'étude nous a permis de constater la difficulté qui réside dans le diagnostic de l'anémie chez les oiseaux de proie sauvage admis en centre de réhabilitation. En effet, au moment de leur admission, les oiseaux anémiques ne présentent pas tous des signes cliniques permettant d'orienter notre diagnostic sur la cause de l'anémie et les circonstances menant à leur admission sont la plupart du temps inconnues. L'on suspecte également que la majorité de ceux-ci sont atteints simultanément d'anémie de plus d'une forme. Notre étude a permis de mettre en évidence deux causes majeures d'anémie chez les oiseaux de proie sauvages, soit la perte de sang et la déficience nutritionnelle. En réalité, il semble que ces deux causes d'anémie soient souvent observées en combinaison. Un oiseau traumatisé peut être anémique suite à une importante perte de sang secondaire à ses blessures et suite à une déficience nutritionnelle étant donné qu'il devient incapable de chasser et de s'alimenter adéquatement (Redig, 1992).

D'après nos données, il semble que la déficience nutritionnelle soit une composante importante de l'anémie chez les oiseaux proie admis en centre de réhabilitation. En effet, principalement basé sur l'état de chair des oiseaux et l'absence de signes cliniques subjectifs, ce type d'anémie est suspecté chez sept des 12 oiseaux à l'étude et représenterait la cause majeure de l'anémie chez six d'entre eux.



Comme véhiculés par la littérature (Redig, 1992), nous avons également pu constater que le trauma est une cause fréquente d'admission des oiseaux de proie en centre de réhabilitation et qu'elle peut entraîner une anémie. Sur les 12 oiseaux inclus dans le projet, 11 avaient des signes de trauma (plaie, luxation, fracture, hématome, sang sur le plumage, syndrome de Horner) et ces signes ont été jugés assez sévères pour être la cause probable de l'anémie dans six de ces cas. Parmi les oiseaux suspectés d'être atteints d'anémie par perte de sang, un de ceux-ci a été associé à une intoxication aux rodenticides. Il semble donc que ce type d'intoxication soit également une cause fréquente d'anémie chez les oiseaux de proie. Cet individu a d'ailleurs reçu avec succès une transfusion de sang entier homologue. Aucune réaction adverse n'a été notée et une rapide correction de l'anémie a été observée (quatre jours). Cela reflète les données de la littérature qui suggèrent que ce type d'anémie répond très bien à la transfusion sanguine et que la transfusion de sang homologue est sécuritaire (Bartlett, 2007; James et al, 1998).

Une anémie de condition chronique a également été suspectée chez une buse à queue rousse où une infection fongique à *Aspergillus* a été confirmée à la nécropsie. Une hétérophilie avait également été constatée à la lecture du frottis sanguin chez cet oiseau.

Une infection parasitaire modérée des érythrocytes par *Leucocytozoon sp.* a été identifiée chez une buse à queue rousse à l'étude. Il est peu probable que ce parasite soit responsable de l'anémie chez cet oiseau étant donné qu'il est faiblement pathogène (Joseph, 2006), mais il est tout de même possible que sa présence ait aggravé la condition de celui-ci. En effet, des cas d'anémie ont été associés à la présence de *Leucocytozoon sp.* chez le pygargue à tête blanche (Stuht et al, 1999) ainsi que des cas de mortalité chez de jeunes grands-ducs d'Amérique lors de faible densité de proie (Hunter et al, 1997).



## Conclusion

---

Étant donné le faible nombre d'oiseaux sauvages inclus dans le projet et l'incapacité de provoquer une anémie par déficience en fer via une perte de sang externe chronique, notre hypothèse principale n'a pas pu être vérifiée en sa totalité. En effet, il nous a été impossible d'étudier l'effet d'une administration de fer intramusculaire sur l'anémie par déficience en fer et ainsi en démontrer l'efficacité. Nous pouvons cependant confirmer qu'une administration de 10 mg/kg de fer dextran intramusculaire semble n'avoir aucun effet sur l'érythropoïèse chez la crécerelle d'Amérique souffrant d'anémie par perte de sang externe aiguë et que ce traitement est associé à une réaction inflammatoire localisée au site d'injection. Ce traitement ne serait donc pas avantageux dans la majorité des cas d'anémie par perte de sang suite à un trauma. Nous avons pu constater que l'anémie est une condition fréquemment rencontrée en centre de réhabilitation des oiseaux de proie, mais que sa classification n'est pas simple. Nos résultats appuient également les données de la littérature en ce qui concerne l'importante capacité des oiseaux à récupérer d'une anémie ainsi que leur tolérance exceptionnelle à la perte de sang. Grâce à l'évaluation parallèle des deux méthodes de détermination du pourcentage des cellules érythroïdes immatures en circulation (polychromatophiles et réticulocytes en anneau), nous pouvons affirmer que celles-ci semblent équivalentes chez les espèces aviaires.

Notre étude a de même permis d'illustrer le manque de connaissances toujours présent concernant les mécanismes qui régissent l'érythropoïèse et le métabolisme du fer chez les oiseaux. Nous suspectons d'ailleurs que l'analyse du fer plasmatique est une méthode peu représentative du fer en circulation chez les oiseaux étant donné la faible uniformité des mesures obtenues. Il serait donc intéressant que d'autres études soient réalisées afin de parfaire nos connaissances sur ces mécanismes et leurs modes

d'évaluation. D'autres projets pourraient également être entrepris pour permettre l'analyse des effets d'une administration de fer dextran intramusculaire sur les différents types d'anémie fréquemment rencontrés chez les oiseaux de proie, et ce, particulièrement dans le développement de modèle valable pour la création d'une anémie par déficience en fer.

## Bibliographie

---

Abou-Madi N, Kollias GV (1992) Avian fluid therapy. In *Current veterinary therapy XI : small animal practice*, Kirk RW, Bonagura JD (eds), pp 1154-1159. Philadelphia: Saunders

Aird B (2000) Acute blood loss anemia. In *Schalm's veterinary hematology*, Feldman BV, Zinkl JG, Jain NC, Schalm OW (eds), 5th edn, pp 151-153. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins

Alsaker RD, Laber J, Stevens J, Perman V (1977) A comparison of polychromasia and reticulocyte counts in assessing erythrocytic regenerative response in the cat. *J Am Vet Med Assoc* 170: 39-41

Altman RB (1983) Heterologous blood transfusions in avian species. In *Proceedings of the annual conference of the Association of Avian Veterinarians*, pp 28-32. San Diego, California

Amine EK, Hegsted DM (1971) Iron deficiency lipemia in the rat and chick. *J Nutr* 101: 1575-1582

Andrews GA, Smith JE (2000) Iron metabolism. In *Schalm's veterinary hematology*, Feldman BV, Zinkl JG, Jain NC, Schalm OW (eds), 5th edn, pp 129-134. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins

Andrews NC (2004) Anemia of inflammation: the cytokine-hepcidin link. *J Clin Invest* 113: 1251-1253

Andrews PA (2000) Disorders of iron metabolism. *N Engl J Med* 342: 1293; author reply 1294

Armand WB (1986) Avian clinical hematology and blood chemistry. In *Zoo & wild animal medicine*, Fowler ME, Mark L. Morris Animal Foundation. (eds), 2nd edn, pp 263-276. Philadelphia ; Toronto: Saunders

Barnes JH, Fletcher OJ, Tahseen A-A (2008) Hemic system. In *Avian histopathology*, Fletcher OJ, Riddell C, American Association of Avian Pathologists (eds), 3rd edn, pp 1-23. Jacksonville, FL.: American Association of Avian Pathologists

Bartholomew A, Latshaw D, Swayne DE (1998) Changes in blood chemistry, hematology, and histology caused by a selenium/vitamin E deficiency and recovery in chicks. *Biol Trace Elem Res* 62: 7-16

Bartlett SL (2007) Diagnosing and treating anemia in the wild avian patient. In *Topics in wildlife medicine : Emergency and critical care*, Tseng FS, Mitchell MA (eds), Vol. 2, pp 40-46. Minnesota: National Wildlife Rehabilitators Association

Blom L, Rasmussen F (1976) Tissue damage at the injection site after intramuscular injection of drugs in hens. *Br Poult Sci* 17: 1-4

Bos JH, Todd B, Tell LA, Ramsay EC, Fowler ME (1992) Treatment of anemic birds with iron dextran therapy: homologous and heterologous blood transfusions. *Tijdschr Diergeneeskde* 117 Suppl 1: 22S-23S

Bounous DI, Stedman NL (2000) Normal avian hematology : chicken and turkey. In *Schalm's veterinary hematology*, Feldman BV, Zinkl JG, Jain NC, Schalm OW (eds), 5th edn, pp 1147-1154. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins

Braude R, Chamberlain AG, Kotarbinska M, Mitchell KG (1962) The metabolism of iron in piglets given labelled iron either orally or by injection. *Br J Nutr* 16: 427-449

Brue RN (1994) Nutrition. In *Avian medicine : principles and application*, Ritchie BW, Harrison GJ, Harrison LR (eds), pp 63-95. Lake Worth, FL.: Wingers Pub.

Brugnara C (2003) Iron deficiency and erythropoiesis: new diagnostic approaches. *Clin Chem* 49: 1573-1578

Burkhard MJ, Brown DE, McGrath JP, Meador VP, Mayle DA, Keaton MJ, Hoffman WP, Zimmermann JL, Abbott DL, Sun SC (2001) Evaluation of the erythroid regenerative response in two different models of experimentally induced iron deficiency anemia. *Veterinary Clinical Pathology* 30: 76-85

Callan MB, Rentko VT (2003) Clinical application of a hemoglobin-based oxygen-carrying solution. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 33: 1277-1293, vi

Campbell F (1967) Fine structure of the bone marrow of the chicken and pigeon. *J Morphol* 123: 405-439

Campbell TW (1991) Avian hematology and cytology. In *Proceedings of the annual conference of the Association of Avian Veterinarians*, pp 357-361. Chicago, Illinois

Campbell TW (1994) Hematology. In *Avian medicine : principles and application*, Ritchie BW, Harrison GJ, Harrison LR (eds), pp 176-198. Lake Worth, FL.: Wingers Pub.

Campbell TW (1995) *Avian hematology and cytology*, 2nd edn. Ames: Iowa State University Press.

Campbell TW, Ellis C (2007) *Avian and exotic animal hematology and cytology*, 3rd edn. Ames, Iowa: Blackwell Pub.

Carpenter JW, Mashima TY, Rupiper DJ (2001) *Exotic animal formulary*, 2nd edn. Philadelphia, Pa.: W.B. Saunders.

Castle MD, Christensen BM (1985) Isolation and identification of *Aegyptianella pullorum* (Rickettsiales, Anaplasmataceae) in wild turkeys from North America. *Avian Dis* 29: 437-445

Christian JA (2000) Red blood cell survival and destruction. In *Schalm's veterinary hematology*, Feldman BV, Zinkl JG, Jain NC, Schalm OW (eds), 5th edn, pp 117-124. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins

Christie G (1978) Haematological and biochemical findings in an anaemia induced by the daily bleeding of ten-week-old cockerels. *British Veterinary Journal* 134: 358-365

Christie G (1979) Haematological and biochemical findings in an experimentally produced haemolytic anaemia in eight-week-old Brown Leghorn cockerels. *Br Vet J* 135: 279-285

Clark CH (1966) Anemia. In *Current veterinary therapy 1966-1967: small animal practice*, Kirk RW (ed), pp 3-8. Philadelphia: Saunders

Clark P, Boardman W, Raidal SR, MyiLibrary Ltd. (2009) Atlas of clinical avian hematology. Wiley-Blackwell, Chichester, West Sussex, U.K. ; Ames, Iowa, pp. vi, 184.



Coates V, March BE (1966) Reticulocyte counts in the chicken. *Poult Sci* 45: 1302-1305

Cooper JE (2002) Medicines and other agents used in treatment, including emergency anesthesia kit and avian resuscitation protocol. In *Birds of prey : health & disease*, Cooper JE, Cooper ME (eds), 3rd edn, pp 271-277. Oxford; Malden, MA: Blackwell Science

Cotter SM (2001) Iron deficiency anemia. In *Quick look series in veterinary medicine*, Cotter SM (ed), pp 24-25. Jackson Hole, Wyo.: Teton NewMedia

Cramer DV, Lewis RM (1972) Reticulocyte response in the cat. *J Am Vet Med Assoc* 160: 61-67

Dabbert CB, Powell KC (1993) Serum enzymes as indicators of capture myopathy in mallards (*Anas platyrhynchos*). *J Wildl Dis* 29: 304-309

Darcel Cle Q, Merriman MJ (1971) Ferritin in the plasma of birds with erythroblastosis. *Poult Sci* 50: 1029-1035

Davis PN, Norris LC, Kratzer FH (1968) Iron utilization and metabolism in the chick. *J Nutr* 94: 407-417

Dawson B, Goodman C, Blee T, Claydon G, Peeling P, Beilby J, Prins A (2006) Iron supplementation: oral tablets versus intramuscular injection. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 16: 180-186

Dawson RD, Bortolotti GR (1997) Are Avian Hematocrits Indicative of Condition? American Kestrels as a Model. *The Journal of Wildlife Management* 61: 1297-1306

Degernes LA (1997) Investigation of homologous and heterologous avian blood transfusions. In *Proceedings of the annual conference of the Association of Avian Veterinarians*, pp 277-278. Reno, Nevada

Deicher R, Horl WH (2004) Hepcidin: a molecular link between inflammation and anaemia. *Nephrol Dial Transplant* 19: 521-524

Dein JF (1982) Avian clinical hematology. In *Proceedings of the annual conference of the Association of Avian Veterinarians*, pp 5-29. Atlanta, Georgia

Dein JF (1983) Avian hematology: Erythrocytes and anemia. In *Proceedings of the annual conference of the Association of Avian Veterinarians*, pp 10-22. San Diego, California

DePalma L (1996) The effect of decalcification and choice of fixative on histiocytic iron in bone marrow core biopsies. *Biotech Histochem* 71: 57-60

Diez JM, Agapito MT, Recio JM (1987) Serum iron, serum ferritin and tissue ferritin during development in ducks. *Comp Biochem Physiol A Comp Physiol* 86: 389-393

Djojosugito AM, Folkow B, Kovach AG (1968) The mechanisms behind the rapid blood volume restoration after hemorrhage in birds. *Acta Physiol Scand* 74: 114-122

Dorrestein GM (1992) An induced iron storage disease syndrome in doves and pigeons: a model for hemochromatosis in mynah birds? In *Proceedings of the annual conference of the Association of Avian Veterinarians*, pp 108-112. New Orleans, Louisiana

Dorrestein GM (2000) Hemochromatosis/Iron storage: New developments. In *Proceedings of the annual conference of the Association of Avian Veterinarians*, pp 233-238. Portland, Oregon

Echols S (1999) Collecting diagnostic samples in avian patients. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract* 2: 621-649

Faich G, Strobos J (1999) Sodium ferric gluconate complex in sucrose: safer intravenous iron therapy than iron dextrans. *Am J Kidney Dis* 33: 464-470

Fernandez FR, Grindem CB (2000) Reticulocyte response. In *Schalm's veterinary hematology*, Feldman BV, Zinkl JG, Jain NC, Schalm OW (eds), 5th edn, pp 110-116. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins

Finnegan MV, Daniel GB, Ramsay EC (1997) Evaluation of Whole Blood Transfusions in Domestic Pigeons (*Columba livia*). *Journal of Avian Medicine and Surgery* 11: 7-14

Forbes NA, Harcourt-Brown NH, Beynon PH (1996) Formularies. In *BSAVA Manual of raptors, pigeons and waterfowl*, Forbes NA, Harcourt-Brown NH, Beynon PH, British Small Animal Veterinary Association (eds), pp 334-352. Ames: Iowa State University Press

Forman DT, Vye MV (1980) Immunoradiometric serum ferritin concentration compared with stainable bone-marrow iron as indices to iron stores. *Clin Chem* 26: 145-147

Foulkes WD, Sewry C, Calam J, Hodgson HJ (1991) Rhabdomyolysis after intramuscular iron-dextran in malabsorption. *Ann Rheum Dis* 50: 184-186

Freeman KP (2000) Bone marrow evaluation. In *Schalm's veterinary hematology*, Feldman BV, Zinkl JG, Jain NC, Schalm OW (eds), 5th edn, pp 29-32. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins

Fu YM, Li SP, Wu YF, Chang YZ (2007) Identification and expression analysis of hepcidin-like cDNAs from pigeon (*Columba livia*). *Mol Cell Biochem* 305: 191-197

Fudge AM (1989) Avian hematology identification and interpretation. In *Proceedings of the annual conference of the Association of Avian Veterinarians*, pp 284-292. Seattle, Washington

Fudge AM (1997) Avian clinical pathology-hematology and chemistry. In *Avian medicine and surgery*, Altman RB (ed), 1st edn, pp 142-157. Philadelphia ; Montreal: Saunders

Ganz T (2003) Hepcidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood* 102: 783-788

Garcia F, Sanchez J, Planas J (1986) Influence of laying on iron metabolism in quail. *Br Poult Sci* 27: 585-592

Gildersleeve RP, Galvin MJ, Thaxton JP, McRee DI (1985a) Hematological response of Japanese quail to acute hemorrhagic stress. *Comp Biochem Physiol A Comp Physiol* 81: 403-409

Gildersleeve RP, Phelps PV, Thaxton JP, McRee DI (1985b) Effect of phlebotomy on reticulocyte numbers in Japanese Quail. *Poult Sci* 64: 1990-1995

Goodman LS (2006) Hematopoietic agents: Growth factors, minerals, and vitamins. In *Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics*, Goodman LS, Gilman A, Brunton LL (eds), 11th edn, pp 1433-1465. New York ; Toronto: McGraw-Hill

Graham JE, Heatley JJ (2007) Emergency care of raptors. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract* 10: 395-418

Haddy FJ, Scott JB, Molnar JI (1965) Mechanism of volume replacement and vascular constriction following hemorrhage. *Am J Physiol* 208: 169-181

Han J, Dunn MA (2000) Effect of dietary aluminum on tissue nonheme iron and ferritin levels in the chick. *Toxicology* 142: 97-109

Hanley CS, Thomas NJ, Paul-Murphy J, Hartup BK (2005) Exertional myopathy in whooping cranes (*Grus americana*) with prognostic guidelines. *J Zoo Wildl Med* 36: 489-497

Harr KE (2006) Diagnostic value of biochemistry. In *Clinical avian medicine*, Harrison GJ, Lightfoot T (eds), pp 611-629. Palm Beach, FL: Spix Publishing

Harrison GJ (1977) Experimental interspecies avian blood transfusions. *Journal of Zoo Animal Medicine* 8: 18-19

Harvey JW (2000) Microcytic anemias. In *Schalm's veterinary hematology*, Feldman BV, Zinkl JG, Jain NC, Schalm OW (eds), 5th edn, pp 200-204. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins

Heaney L, Wissman M (1996) Raptor emergency care - First do no harm. In *Proceedings of the annual conference of the Association of Avian Veterinarians*, pp 369-375. Tampa, Florida

Hebert R, Nanney J, Spano JS, Pedersoli WM, Krista LM (1989) Erythrocyte distribution in ducks. *Am J Vet Res* 50: 958-960

Hochleithner M (1994) Biochemistries. In *Avian medicine : principles and application*, Ritchie BW, Harrison GJ, Harrison LR (eds), pp 223-245. Lake Worth, Fla.: Wingers Pub.

Hodges RD (1974) The circulatory system. In *The histology of the fowl*, Hodges RD (ed), pp 150-242. London: Academic Press

Howlett JC, Bailey TA, Samour JH, Naldo JL, D'Aloia MA (2002) Age-related hematologic changes in captive-reared houbara, white-bellied, and rufous-crested bustards. *J Wildl Dis* 38: 804-816

Hunter DB, Rohner C, Currie DC (1997) Mortality in fledgling great horned owls from black fly hematophaga and leucocytozoonosis. *J Wildl Dis* 33: 486-491

Hunter JE (1978) Variable effects of iron status on the concentration of ferritin in rat plasma, liver, and spleen. *J Nutr* 108: 497-505

James SB, Raphael BL, Cook RA (1998) Brodifacoum toxicity and treatment in a white-winged wood duck ( *Cairina scutulata* ). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 29: 324-327

Jenkins JR (1997) Avian critical care and emergency medicine. In *Avian medicine and surgery*, Altman RB (ed), 1st edn, pp 839-863. Philadelphia ; Montreal: Saunders

Jennings IB (1996) Haematology. In *BSAVA Manual of raptors, pigeons and waterfowl*, Forbes NA, Harcourt-Brown NH, Beynon PH, British Small Animal Veterinary Association (eds), pp 68-78. Ames: Iowa State University Press

Johns JL, Shooshtari MP, Christopher MM (2008) Development of a technique for quantification of reticulocytes and assessment of erythrocyte regenerative capacity in birds. *American Journal of Veterinary Research* 69: 1067-1072

Jones MP (1999) Avian clinical pathology. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract* 2: 663-687, vii

Jones MP, Pollock CG (2000) Supportive care and shock. In *Manual of avian medicine*, Olsen GH, Orosz SE (eds), pp 17-46. St. Louis, Mo. ; London: Mosby

Joseph V (1999) Raptor hematology and chemistry evaluation. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract* 2: 689-699, vii

Joseph V (2006) Raptor medicine: an approach to wild, falconry, and educational birds of prey. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract* 9: 321-345, vii

Kane RC (2003) Intravenous iron replacement with sodium ferric gluconate complex in sucrose for iron deficiency anemia in adults. *Current Therapeutic Research* 64: 263-268

Klasing KC (1998) Minerals. In *Comparative avian nutrition*, Klasing KC (ed), pp 234-276. Wallingford, Oxon, UK ; New York, NY: Cab International

Klein JR (1959) Metabolism of iron in the duck. *Am J Physiol* 196: 656-662

Komolafe JO, Kuti O, Ijadunola KT, Ogunniyi SO (2003) A comparative study between intramuscular iron dextran and oral ferrous sulphate in the treatment of iron deficiency anaemia in pregnancy. *J Obstet Gynaecol* 23: 628-631

Kossoff S, Bladow R (1996) Standardization of avian diagnostics in hematology and chemistry. In *Proceedings of the annual conference of the Association of Avian Veterinarians*, pp 57-63. Tampa, Florida

Kovach AG, Balint T (1969) Comparative study on haemodilution after haemorrhage in the pigeon and the rat. *Acta Physiol Acad Sci Hung* 35: 231-243

Kovach AG, Szasz E, Pilmayer N (1969) Mortality of various avian and mammalian species following blood loss. *Acta Physiol Acad Sci Hung* 35: 109-116

Kumpf VJ (2003) Update on parenteral iron therapy. *Nutr Clin Pract* 18: 318-326

Landys-Ciannelli MM, Jukema J, Piersma T (2002) Blood Parameter Changes during Stopover in a Long-Distance Migratory Shorebird, the Bar-Tailed Godwit *Limosa lapponica taymyrensis*. *Journal of Avian Biology* 33: 451-455

Leeson S, Summers JD (2001) Minerals. In *Nutrition of the chicken*, Leeson S, Summers JD, Scott ML (eds), 4th edn, pp 331-428. Guelph, Ont.: University Books

Lichtenberger M (2004a) Principles of shock and fluid therapy in special species. (Emergency Medicine). *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine* 13: 142-153



Lichtenberger M (2004b) Transfusion medicine in exotic pets. *Clin Tech Small Anim Pract* 19: 88-95

Lichtenberger M, Orcutt C, Cray C, Thamm DH, DeBehnke D, Page C, Mull L, Kirby R (2009) Comparison of fluid types for resuscitation after acute blood loss in mallard ducks (*Anas platyrhynchos*). *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)* 19: 467-472

Lipinski P, Starzynski RR, Canonne-Hergaux F, Tudek B, Olinski R, Kowalczyk P, Dziaman T, Thibaudeau O, Gralak MA, Smuda E, Wolinski J, Usinska A, Zabielski R (2010) Benefits and risks of iron supplementation in anemic neonatal pigs. *Am J Pathol* 177: 1233-1243

Lumeij JT (1997) Avian clinical biochemistry. In *Clinical biochemistry of domestic animals*, Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML (eds), 5th edn, pp 857-883. San Diego, Calif. ; Toronto: Academic Press

Lumeij JT, Meidam M, Wolfswinkel J, Van der Hage MH, Dorrestein GM (1988) Changes in plasma chemistry after drug-induced liver disease or muscle necrosis in racing pigeons (*Columba livia domestica*). *Avian Pathol* 17: 865-874

Macwhirter P (2000) Basic anatomy, physiology and nutrition. In *Avian medicine*, Tully TN, Lawton MPC, Dorrestein GM (eds), pp 1-25. Oxford: Butterworth-Heinemann

Macwhirter P (2009) Basic anatomy, physiology and nutrition. In *Handbook of avian medicine*, Tully TN, Dorrestein GM, Jones AK (eds), 2nd edn, pp 25-55. Edinburgh ; Toronto: Elsevier/Saunders

Mahaffey EA (1986) Disorders of iron metabolism. In *Current veterinary therapy IX: small animal practice*, Kirk RW (ed), pp 521-524. Philadelphia: Saunders

Martin HD, Kollias GV (1989) Evaluation of water deprivation and fluid therapy in pigeons. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 20: 173-177

Matheson JS, Paul-Murphy J, O'Brien RT, Steinberg H (2007) Quantitative ultrasound, magnetic resonance imaging, and histologic image analysis of hepatic iron accumulation in pigeons (*Columbia livia*). *J Zoo Wildl Med* 38: 222-230

Mitchell EB, Johns J (2008) Avian hematology and related disorders. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract* 11: 501-522, vi

Morgan EH (1975) Plasma iron transport during egg laying and after oestrogen administration in the domestic fowl (*Gallus domesticus*). *Q J Exp Physiol Cogn Med Sci* 60: 233-247

Morton ML (1994) Hematocrits in Montane Sparrows in Relation to Reproductive Schedule. *The Condor* 96: 119-126

Murray M, Tseng F (2008) Diagnosis and treatment of secondary anticoagulant rodenticide toxicosis in a red-tailed hawk (*Buteo jamaicensis*). *J Avian Med Surg* 22: 41-46

Nemeth E, Rivera S, Gabayan V, Keller C, Taudorf S, Pedersen BK, Ganz T (2004) IL-6 mediates hypoferremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *J Clin Invest* 113: 1271-1276

Nissenson AR, Charytan C (2003) Controversies in iron management. *Kidney Int Suppl*: S64-71

NRC (2005) Iron. In *Mineral tolerance of animals*, National Research Council (É.-U.). Committee on Minerals and Toxic Substances in Diets and Water for Animals., Animals NRCÉ-USoMTi (eds), 2nd rev. edn, pp 199-207. Washington, D.C.: National Academies Press

Olsen GH, Gaunt SD (1985) Effect of hemoprotozoal infections on rehabilitation of wild raptors. *J Am Vet Med Assoc* 187: 1204-1205

Panagiotou JP, Douros K (2004) Clinicolaboratory findings and treatment of iron-deficiency anemia in childhood. *Pediatr Hematol Oncol* 21: 521-534

Park L, Uhthoff T, Tierney M, Nadler S (1998) Effect of an intravenous iron dextran regimen on iron stores, hemoglobin, and erythropoietin requirements in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 31: 835-840

Ploucha JM, Scott JB, Ringer RK (1981) Vascular and hematologic effects of hemorrhage in the chicken. *Am J Physiol* 240: H9-17

Porter SL (2005) Comparative hematology. In *Topics in wildlife medicine : Clinical pathology*, Tseng FS, Mitchell MA (eds), Vol. 1, pp 7-12. Minnesota: National Wildlife Rehabilitators Association

Powers L (1997) Fluid therapy in birds. In *Proceedings of the annual conference of the Association of Avian Veterinarians*, pp 259-262. Reno, Nevada

Quesenberry KE, Hillyer EV (1994) Supportive care and emergency therapy. In *Avian medicine : principles and application*, Ritchie BW, Harrison GJ, Harrison LR (eds), pp 382-416. Lake Worth, Fla.: Wingers Pub.

Ramis J, Planas J (1978) Iron metabolism in pigeons. *Q J Exp Physiol Cogn Med Sci* 63: 383-393

Ramsay WN, Campbell EA (1954) Iron metabolism in the laying hen. *Biochem J* 58: 313-317

Reagan WJ, Irizarry Rovira AR, DeNicola DB (2008) Normal red blood cell morphology. In *Veterinary hematology : atlas of common domestic and non-domestic species*, Reagan WJ, Irizarry Rovira AR, DeNicola DB (eds), 2nd edn, pp 13-16. Ames, Iowa: Blackwell

Redig PT (1992) Management of medical emergencies in raptors. In *Current veterinary therapy XI : small animal practice*, Kirk RW, Bonagura JD (eds), pp 1134-1138. Philadelphia: Saunders

Ritchie BW, Harrison GJ (1994) Formulary. In *Avian medicine : principles and application*, Ritchie BW, Harrison GJ, Harrison LR (eds), pp 457-478. Lake Worth, Fla.: Wingers Pub.

Romagnano A, Barnes JH, Perkins P, Guy JS, Flammer K (1994) Binucleate erythrocytes and erythrocytic dysplasia in a cockatiel. In *Proceedings of the annual conference of the Association of Avian Veterinarians*, pp 83-86. Reno, Nevada

Romanoff AL (1960) The hematopoietic, vascular, and lymphatic systems. In *The avian embryo; structural and functional development*, Romanoff AL (ed), pp 569-678. New York,: Macmillan

Rosse WF, Waldmann TA (1966) Factors controlling erythropoiesis in birds. *Blood* 27: 654-661

Rupley AE (1997a) Clinical pathology. In *Manual of avian practice*, Rupley AE (ed), 1st edn, pp 345-402. Philadelphia ; Montreal: Saunders

Rupley AE (1997b) Emergency procedures: Recovering from disaster. In *Proceedings of the annual conference of the Association of Avian Veterinarians*, pp 249-257. Reno, Nevada

Saiz MP, Marti MT, Mitjavila MT, Planas J (1993) Iron absorption by small intestine of chickens. *Biol Trace Elem Res* 36: 7-14

Samour J (2006) Diagnostic value of hematology. In *Clinical avian medicine*, Harrison GJ, Lightfoot T (eds), Vol. 2, pp 587-609. Palm Beach, FL: Spix Publishing

Sanchez J, Garcia F, Planas J (1987) Iron content and distribution in Japanese quail. *Q J Exp Physiol* 72: 21-29

Sandmeier P, Stauber EH, Wardrop KJ, Washizuka A (1994) Survival of pigeon red blood cells after transfusion into selected raptors. *J Am Vet Med Assoc* 204: 427-429

Schepelmann K (1990) Erythropoietic bone marrow in the pigeon: development of its distribution and volume during growth and pneumatization of bones. *J Morphol* 203: 21-34

Schindler SL, Gildersleeve RP, Thaxton JP, McRee DI (1987) Hematological response of hemorrhaged Japanese quail after blood volume replacement with saline. *Comp Biochem Physiol A Comp Physiol* 87: 933-945

Sheppard C, Dierenfeld E (2002) Iron storage disease in birds: speculation on aetiology and implications for captive husbandry. *Journal of Avian Medicine and Surgery* 16: 192-197

Sladic-Simic D, Cvetkovic M (1978) Iron resorption and iron stores in piglets after intramuscular injection of  $^{59}\text{Fe}$ -iron dextran. *Zentralbl Veterinarmed A* 25: 680-683

Smith FM, West NH, Jones DR (2000) The cardiovascular system. In *Sturkie's avian physiology*, Whittow GC (ed), 5th edn, pp 141-231. San Diego ; Toronto: Academic Press

Smith JE (1997) Iron metabolism and its disorders. In *Clinical biochemistry of domestic animals*, Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML (eds), 5th edn, pp 223-239. San Diego, Calif. ; Toronto: Academic Press

Stone EG, Redig PT (1994) Preliminary evaluation of hetastarch for the management of hypoproteinemia and hypovolemia. In *Proceedings of the annual conference of the Association of Avian Veterinarians*, pp 197-199. Reno, Nevada

Stone M (2000) Iron deficiency anaemia. In *BSAVA manual of canine and feline haematology and transfusion medicine*, Day MJ, Mackin A, Littlewood J, British Small Animal Veterinary Association (eds), pp 54-57. Quedgeley, Gloucester: British Small Animal Veterinary Association

Strasser SI, Kowdley KV, Sale GE, McDonald GB (1998) Iron overload in bone marrow transplant recipients. *Bone Marrow Transplant* 22: 167-173

Stuht JN, Bowerman WW, Best DA (1999) Leucocytozoonosis in nestling bald eagles in Michigan and Minnesota. *J Wildl Dis* 35: 608-612

Sturkie PD, Griminger P (1986) Body fluids: Blood. In *Avian physiology*, Sturkie PD, Benzo CA (eds), 4th edn, pp 102-129. New York: Springer-Verlag

Switzer JW (1971) Anemia. In *Current veterinary therapy IV: small animal practice*, Kirk RW (ed), pp 254-260. Philadelphia: Saunders

Tako E, Rutzke MA, Glahn RP (2010) Using the domestic chicken (*Gallus gallus*) as an in vivo model for iron bioavailability. *Poult Sci* 89: 514-521

Thrall MA (2004) *Veterinary hematology and clinical chemistry*, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.

Tully TN (1997) Formulary. In *Avian medicine and surgery*, Altman RB (ed), 1st edn, pp 671-688. Philadelphia ; Montreal: Saunders

Wagner EC, Stables CA, Williams TD (2008) Hematological changes associated with egg production: direct evidence for changes in erythropoiesis but a lack of resource dependence? *J Exp Biol* 211: 2960-2968

Waner T, Harrus S (2000) Anemia of inflammatory disease. In *Schalm's veterinary hematology*, Feldman BV, Zinkl JG, Jain NC, Schalm OW (eds), 5th edn, pp 205-209. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins

Weeks BR, Smith JE, Northrop JK (1989) Relationship of serum ferritin and iron concentrations and serum total iron-binding capacity to nonheme iron stores in dogs. *Am J Vet Res* 50: 198-200

Weiser G, O'Grady M (1983) Erythrocyte volume distribution analysis and hematologic changes in dogs with iron deficiency anemia. *Vet Pathol* 20: 230-241

Weiss DJ (1986) Therapy for disorders of erythropoiesis. In *Current veterinary therapy IX: small animal practice*, Kirk RW (ed), pp 490-495. Philadelphia: Saunders

Worell A (1991) Phlebotomy for treatment of hemochromatosis in two sulfur-breasted toucans. In *Proceedings of the annual conference of the Association of Avian Veterinarians*, pp 9-14. Chicago, Illinois

Zhou WT, Fujita M, Yamamoto S (1998) Effects of food and water withdrawal and high temperature exposure on diurnal variation in blood viscosity of broiler chickens. *Br Poult Sci* 39: 156-160

Ziman M, Colagross-Schouten A, Griffey S, Stedman B (2004) Haemoproteus spp. and Leukocytozoon spp. in a captive raptor population. *J Wildl Dis* 40: 137-140



## Annexe I – Grille d'évaluation des points limites par score

Critères			Score	Action
Perte de 20 % du poids	Anorexie complète	Comportement *		
1	2	3	Score	Action
X			1	Situation <u>peu probable</u> sans les autres critères. Seule une déshydratation sévère et aiguë provoquerait cet état : un examen mènerait alors à instaurer un plan de réhydratation et un suivi plus serré sans nécessairement retirer l'individu de l'étude.
	X		1	Peser et examiner l'individu à sa 2 <sup>e</sup> journée d'anorexie. Suivre plus attentivement et évaluer un plan de traitement si présence d'une cause aiguë et réponse rapide prévisible (ex. corps étranger pris dans le bec). Si problème plus sévère, l'individu risque de passer vers des scores plus élevés. Traiter la cause et évaluer si le projet doit être arrêté pour cet individu.
		X	1	Peser et examiner l'individu. Suivre plus attentivement et évaluer un plan de traitement si présence d'une cause aiguë et réponse rapide prévisible (ex. corps étranger pris dans le bec). Si problème plus sévère, l'individu risque de passer vers des scores plus élevés. Traiter la cause et évaluer si le projet doit être arrêté pour cet individu.
X	X		2	Examiner l'individu. Suivre plus attentivement et évaluer un plan de traitement si présence d'une cause aiguë et réponse rapide prévisible (ex. corps étranger pris dans le bec). Si problème plus sévère, l'individu risque de passer vers des scores plus élevés rapidement. Traiter la cause et évaluer si le projet doit être arrêté pour cet individu.
	X	X	2	Peser et examiner l'individu à sa 2 <sup>e</sup> journée d'anorexie. Suivre plus attentivement et évaluer un plan de traitement si présence d'une cause aiguë et réponse rapide prévisible (ex. corps étranger pris dans le bec). Si problème plus sévère, l'individu risque de passer vers des scores plus élevés rapidement. Traiter la cause et évaluer si le projet doit être arrêté pour cet individu.
X		X	2	Examiner l'individu. Suivre plus attentivement et évaluer un plan de traitement si présence d'une cause aiguë et réponse rapide prévisible (ex. diarrhée aiguë avec bon appétit). Si problème plus sévère, l'individu risque de passer vers des scores plus élevés rapidement. Traiter la cause et évaluer si le projet doit être arrêté pour cet individu.
X	X	X	3	Retrait de l'étude et euthanasie (à moins que l'oiseau puisse être utilisé dans une autre étude et qu'à la suite du diagnostic l'individu réponde bien au traitement).

\* Comportement : activité diminuée, plumes gonflées, yeux mi-clos



## **Annexe II – Protocoles de coloration**

---

### **1. Coloration standard (*Dip Quick*)**

- À l'aide d'une goutte de sang, réaliser un frottis sanguin avec la technique à deux lames et laisser sécher.
- Tremper et puis retirer la lame dix fois en l'agitant doucement dans les quatre solutions. En ordre, le fixateur, le colorant éosinophile, le colorant basophile et la solution de rinçage à l'eau distillée.
- Enlever l'excédant de colorant entre chaque solution en déposant la lame à la verticale sur un papier absorbant pour quelques secondes.
- Laisser sécher à l'air libre.

### **2. Coloration au nouveau bleu de méthylène (NBM)**

- Déposer une goutte de sang dans un tube sec.
- Ajouter trois gouttes de colorant NBM (dilution 1 : 3).
- Mélanger en agitant légèrement et laisser reposer dix minutes.
- À l'aide d'une pipette de verre, aspirer une goutte de solution pour réaliser le frottis sanguin.
- Laisser sécher à l'air libre.



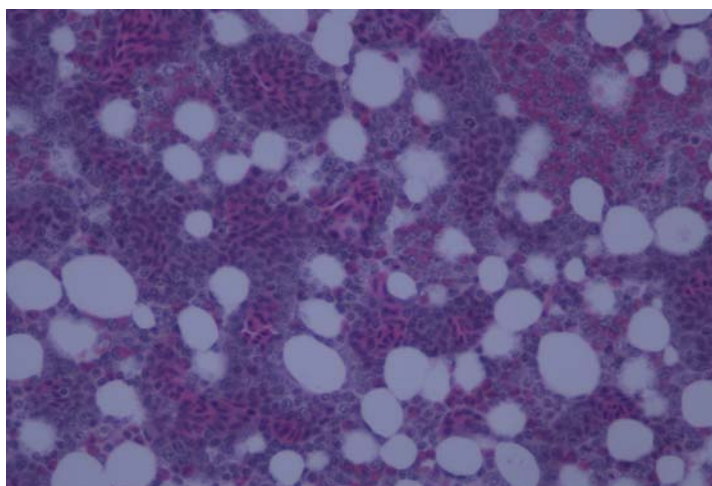
## **Annexe III – Protocole de traitement et d'analyse d'image par le logiciel *Image J***

---

Les photographies de moelle osseuse ont été analysées à l'aide du logiciel *Image J* (*National Center for Biotechnology Information*, <http://rsbweb.nih.gov/ij/>) afin de déterminer la fraction de l'aire occupée par les cellules (évaluation de la densité cellulaire) et par le fer (évaluation des réserves de fer). Pour calculer la densité cellulaire de la moelle osseuse, les zones occupées par du gras ont été sélectionnées. Pour mettre en évidence les réserves de fer, les zones colorées en bleu ont été sélectionnées. Voici par étape les détails des manipulations. L'évaluation de la densité cellulaire a été choisie à titre d'exemple.

### **1. Sélection de l'image**

— *File* → *Open*



**Figure 20 :** Photographie microscopique 400X (objectif 40X) d'une préparation histologique (HPS) de moelle osseuse

### **2. Mise au point du contraste**

— *Image* → *Adjust* → *Brightness/Contrast* → *Auto*

### 3. Sélection de la zone d'intérêt

— *Image* → *Adjust* → *Color Threshold*

— Les zones d'intérêt sont sélectionnées avec l'outil de sélection (*Elliptical selection*). Dans cet exemple, la zone d'intérêt correspond à des régions de coloration blanche représentant le gras.

— Dans la boîte de menu *Threshold color* → *Sample*

— La case *Threshold* a été cochée pour mettre la sélection en noir, favorisant l'évaluation de la sélection et l'analyse de celle-ci



**Figure 21** : Photographie microscopique 400X (objectif 40X) d'une préparation histologique (HPS) de moelle osseuse traitée à l'aide du logiciel *Image J* afin de mettre en évidence les régions occupées par du gras

### 4. Calcul de la fraction de l'aire occupée par la sélection

*Image* → *Type 8-bit*

*Process* → *Binary* → *Watershed*

*Analyse* → *Analyse Particules*

5. Les étapes 1 à 4 ont été répétées pour les neuf autres images et la moyenne des dix valeurs a été calculée

**Tableau XI** : Exemple de résultats fournis par *Image J* suite à la demande de calcul de la fraction de l'aire occupée par la sélection

<b><i>Slice</i></b>	<b><i>Count</i></b>	<b><i>Total Area</i></b>	<b><i>Area Fraction</i></b>
4411.40X.1.tif	1253	1.947E-4	25.4
4411.40X.2.tif	1577	1.641E-4	21.4
4411.40X.3.tif	1004	2.033E-4	26.5
4411.40X.4.tif	3531	4.066E-4	52.9
4411.40X.5.tif	1822	2.213E-4	28.8
4411.40X.6.tif	1358	2.453E-4	31.9
4411.40X.7.tif	1304	1.705E-4	22.2
4411.40X.8.tif	1663	1.678E-4	21.8
4411.40X.9.tif	1991	2.477E-4	32.3
4411.40X.10.tif	2212	2.003E-4	26.1

Fraction de l'aire moyenne (n=10) occupée par le gras : 28,93 %

Fraction de l'aire moyenne (n=10) occupée par les diverses cellules de la moelle osseuse (densité cellulaire) : 71,07 % (100 % - 28,93 %)





## **Annexe IV – Projet pilote sur la création d'une anémie par déficience en fer via une perte de sang externe chronique chez la crécerelle d'Amérique (*Falco sparverius*)**

---

### **1. Introduction**

Deux projets pilotes ont été effectués afin de créer une anémie par déficience en fer via une perte de sang externe chronique. Le but de ces essais était de pouvoir évaluer l'effet d'une injection de fer dextran de 10 mg/kg IM sur un autre type d'anémie que la perte de sang aiguë, soit l'anémie par déficience en fer. Il était impératif de procéder à ces manipulations étant donné l'absence de modèles expérimentaux chez les oiseaux de proie. Nous devons donc déterminer en premier lieu s'il était possible de créer une anémie par déficience en fer via une perte externe chronique de sang chez la crécerelle d'Amérique et par la suite connaître le volume et la fréquence des prélèvements sanguins requis à la création de cette anémie.

### **2. Méthodologie**

L'ensemble des procédures décrites a été au préalable approuvé par le Comité d'éthique de l'utilisation des animaux (CÉUA) de la Faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Montréal.

#### **2.1. Projet pilote 1**

Trois crécerelles d'Amérique issues de la captivité (*Avian Science and Conservation Centre* du Collège MacDonald, Université McGill) ont été utilisées pour ce projet. Des phlébotomies de 2 % du poids corporel des oiseaux (environ 20 % du volume sanguin total) ont été effectuées deux fois

par semaine, soit à un intervalle variant entre 3 et 4 jours. Les prélèvements ont été réalisés sous anesthésie générale au niveau de la veine jugulaire droite à l'aide de seringues (3 ou 5 mL) et d'aiguilles (25 ou 27G hypodermique simple ou monté sur un papillon) pré-héparinisées. Lors de situations particulières (par exemple lorsqu'une quantité insuffisante de sang a été retirée), la veine jugulaire gauche ainsi que les veines basiliques/ulnaires ont été utilisées. Afin d'éviter l'hypovolémie, un volume équivalent de fluide (NaCl 0,9%) à celui du sang prélevé chez l'animal a été administré par voie sous-cutanée dans les aines à la fin de chaque phlébotomie. Les valeurs d'hématocrite (Ht) ainsi que l'état général des oiseaux ont été suivis dans le temps à chaque phlébotomie. Les mêmes méthodes d'évaluations que celles employées lors de l'étude des effets de l'administration de fer IM chez la crécerelle d'Amérique et les oiseaux de proie sauvages (Chapitre 2 – Méthodologie) ont été utilisées pour ces paramètres.

## 2.2.      Projet pilote 2

Le même protocole expérimental a été réalisé pour ce projet excepté que cinq crécerelles d'Amérique ont été utilisées et que les prélèvements bihebdomadaires étaient de 3-4 % du poids corporel des oiseaux, soit 30-40 % du volume sanguin total. En plus des valeurs d'Ht et de l'état général des oiseaux, le pourcentage de polychromatophiles ainsi que les valeurs de fer plasmatique ont été suivis dans le temps à chaque phlébotomie. Les mêmes méthodes d'évaluations que celles employées lors de l'étude des effets de l'administration de fer IM chez la crécerelle d'Amérique et les oiseaux de proie sauvages (Chapitre 2 – Méthodologie) ont été utilisées pour ces paramètres.

### 3. Résultats et discussion

#### 3.1. Projet pilote 1

Suite à quatre semaines de prélèvements, soit huit phlébotomies, la moyenne des trois oiseaux à l'étude n'illustre aucune anémie (tableau XII). Un seul individu a présenté une valeur d'Ht  $\leq 0,30$  L/L à la 8<sup>e</sup> phlébotomie. Il n'y a également pas de diminution graduellement des valeurs d'Ht avec le nombre de prélèvements et celles-ci semblent fluctuer dans le temps.

**Tableau XII** : Valeurs d'Ht (L/L) des trois crécerelles d'Amérique du projet pilote 1 en fonction du nombre de phlébotomies

Individu	Phlébotomie							
	1	2	3	4	5	6	7	8
1	0,44	0,50	0,42	0,39	0,39		0,41	0,59
2	0,47	0,45	0,52	0,48	0,43	0,40	0,42	0,45
3	0,37	0,50	0,50	0,47	0,45	0,36	0,40	0,30
Moyenne	0,43	0,48	0,48	0,45	0,42	0,38	0,41	0,45

Suite aux procédures, deux des trois individus du projet ont eu une perte de poids (de 25 et 16 g) ainsi qu'une diminution de l'état de chair (de 4 à 3) malgré un bon appétit. Étant donné le très bon état de chair de départ des individus, cette perte de poids ne semble pas avoir eu un effet néfaste sur le bon état général des oiseaux, mais signale tout de même un effet de stress relié aux manipulations. Le troisième oiseau a cependant montré des signes de dépression et une diminution de l'activité croissant avec le nombre de phlébotomies.

Étant donné l'absence d'anémie à la suite de huit prélèvements sanguins (quatre semaines) et l'apparition de signes cliniques associés aux manipulations, les procédures ont donc été discontinuées.

### 3.2. Projet pilote 2

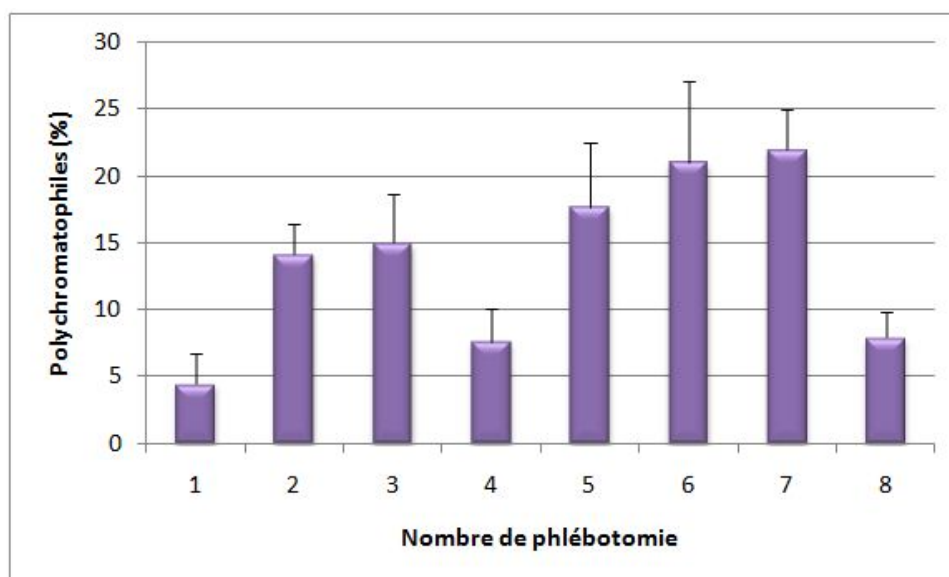
Aucune anémie n'a pu être produite à l'aide de ce protocole (tableau XIII). En effet, l'ensemble des oiseaux a conservé des valeurs d'Ht supérieures à 0,35 L/L pour toute la durée des procédures.

**Tableau XIII** : Valeurs d'Ht (L/L) des quatre crécerelles d'Amérique du projet pilote 2 en fonction du nombre de phlébotomies

Individu	Phlébotomie							
	1	2	3	4	5	6	7	8
1	0,55	0,47	0,38	0,47	0,44	0,40	0,37	0,40
2	0,58	0,45	0,47	0,52	0,40	0,40	0,40	
3	0,55	0,51	0,46	0,50	0,40	0,43	0,39	0,44
4	0,57	0,55	0,47	0,57	0,53	0,56	0,43	0,47
5	0,55	0,44						
Moyenne	0,56	0,48	0,45	0,52	0,44	0,45	0,40	0,44

En ce qui concerne le pourcentage de polychromatophiles, une régénérescence érythroïde a été observée lors des phlébotomies 2, 3, 5, 6 et 7 (Figure 22).

Des variations de l'hématocrite et du pourcentage des polychromatophiles sont observables en fonction du nombre de phlébotomies. En effet, il semble que ces valeurs ne suivent pas une diminution ou une augmentation constante, mais qu'elles ont tendance à fluctuer d'un prélèvement sanguin à l'autre. Cela pourrait être causé par deux variables non constantes du protocole, soit l'intervalle de temps entre deux phlébotomies (3 ou 4 jours) et le volume de sang prélevé (entre 3 et 4 % du poids corporel). Un intervalle de temps plus long entre deux phlébotomies et un prélèvement sanguin moins important pourrait avoir comme effet une meilleure récupération de l'oiseau, soit une augmentation des valeurs d'Ht et une diminution du pourcentage du nombre de cellules érythroïdes immatures.



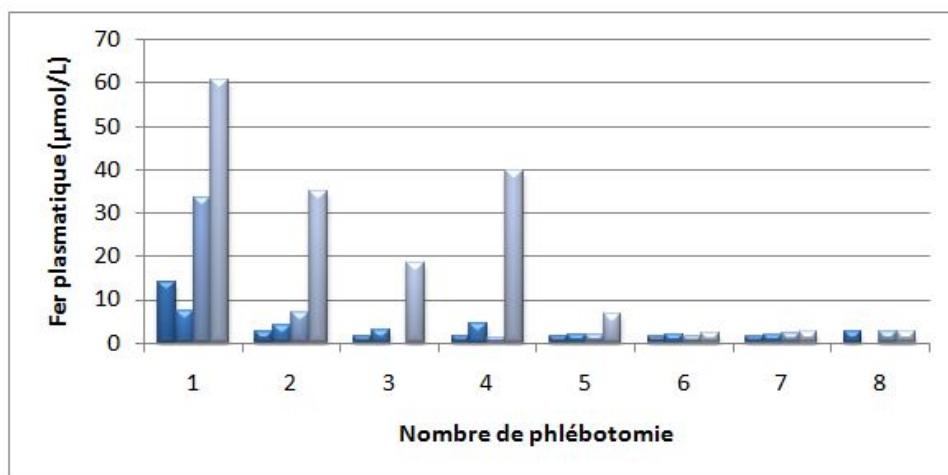
**Figure 22 :** Graphique illustrant la moyenne des pourcentages de polychromatophiles des individus du projet pilote 2 (n=4) en fonction du nombre de phlébotomies

Cette théorie pourrait expliquer les variations notées à la 4<sup>e</sup> phlébotomie. Effectivement, suite à des erreurs techniques produites à la 3<sup>e</sup> phlébotomie, un faible prélèvement sanguin moyen (1,9 % du poids corporel) et un intervalle de temps plus grand (5 jours) a eu lieu entre la 3<sup>e</sup> et 4<sup>e</sup> phlébotomie. Cela pourrait donc expliquer l'augmentation des valeurs d'Ht et la diminution du nombre de polychromatophiles observés à la 4<sup>e</sup> phlébotomie.

Dès la 6<sup>e</sup> phlébotomie, les oiseaux ont montré des signes de faiblesse de plus en plus importants. Une augmentation du nombre de problèmes anesthésiques (arrêts respiratoires fréquents, réveils longs et difficiles) ainsi qu'une récupération plus ardue des individus suite au prélèvement (diminution importante de l'activité, plumes ébouriffées, yeux mis-clos) ont été observées. Par contre, le poids, l'état de chair et l'appétit des oiseaux sont restés stables tout au long des procédures. Deux des cinq crécerelles d'Amérique (40 %) du projet sont cependant mortes suite aux manipulations. Dans les deux cas, les individus sont morts d'un arrêt cardiorespiratoire à la

toute fin d'un important prélèvement sanguin (4 % du poids corporel de l'oiseau). Le premier est décédé au moment de la 2<sup>e</sup> phlébotomie et le second lors du 7<sup>e</sup> prélèvement sanguin. Une nécropsie réalisée par le Service de diagnostic en pathologie de la faune de la Faculté de médecine vétérinaire (Centre québécois sur la santé des animaux sauvages, CQSAS) a confirmé que la cause vraisemblable de la mort est le choc hypovolémique. Il est également intéressant de noter que de nombreux petits foyers d'hématopoïèse extramédullaire ont été observés dans le foie de ces deux oiseaux. Étant donné l'absence d'anémie au 8<sup>e</sup> prélèvement sanguin, l'apparition de signes cliniques associés aux manipulations ainsi que le fort taux de mortalité, les procédures ont donc été discontinuées.

Pour ce qui est des valeurs de fer plasmatique, on remarque une tendance à la diminution de celles-ci suite à la première phlébotomie (Figure 23). Les données sont également grandement variables entre les individus, et ce principalement en ce qui concerne les valeurs de bases obtenues suite à la 1<sup>ère</sup> phlébotomie. Cela suggère une importante variation interindividuelle des valeurs de fer plasmatique chez la crécerelle d'Amérique.



**Figure 23 :** Graphique illustrant les valeurs de fer plasmatique (µmol/L) pour chacun des individus du projet pilote 2 (n=4) en fonction du nombre de phlébotomies

## **4. Conclusion**

En effectuant deux prélèvements sanguins par semaine correspondant à 2-4 % du poids corporel des oiseaux pour une durée de quatre semaines, aucune anémie n'a pu être créée. De plus, cette procédure a initié avec le temps l'apparition de signes cliniques et a également entraîné la mort de certains individus. Ce protocole de création d'une anémie par déficience en fer par une perte de sang externe chronique semble donc être non valable chez la crécerelle d'Amérique.





